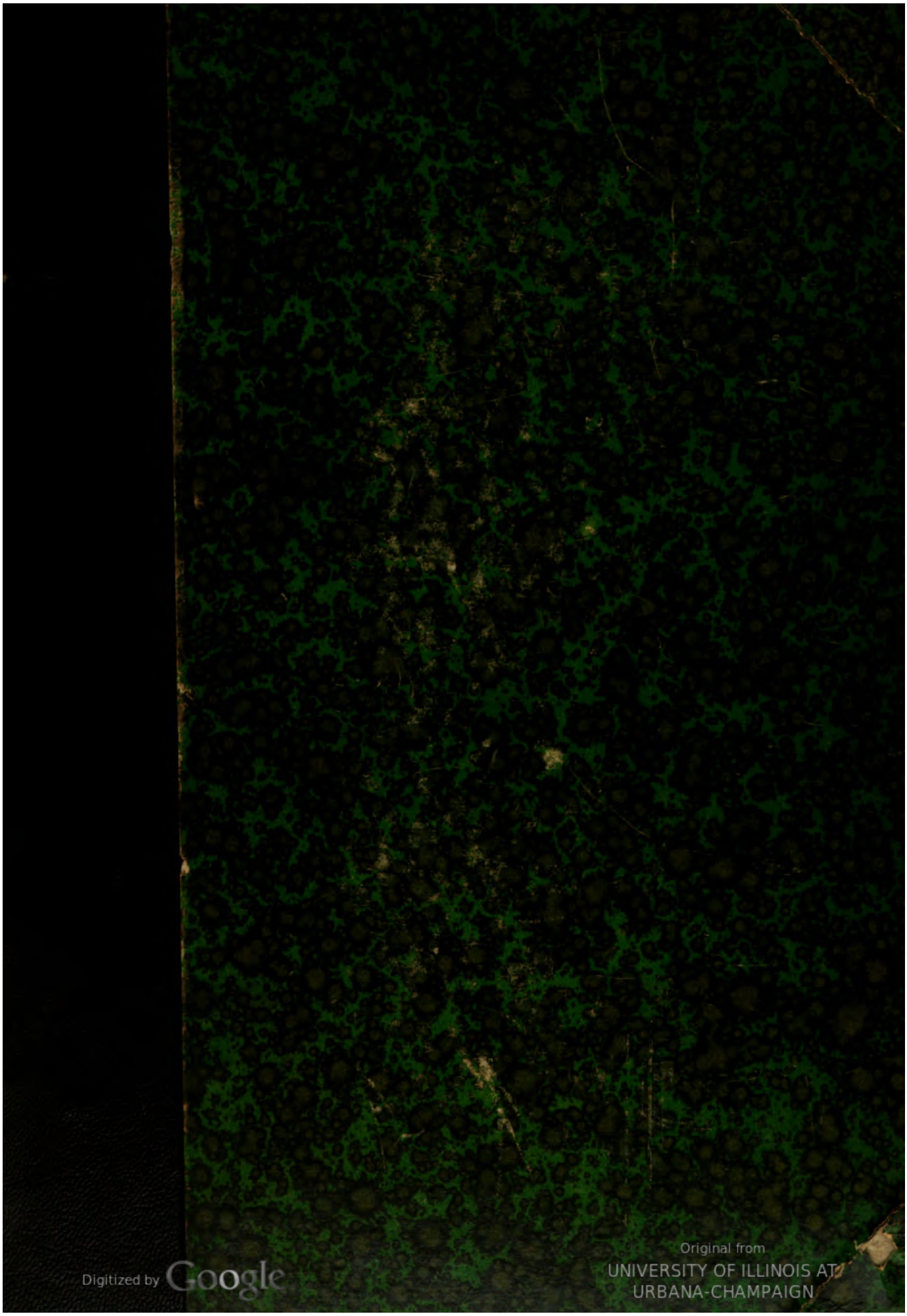
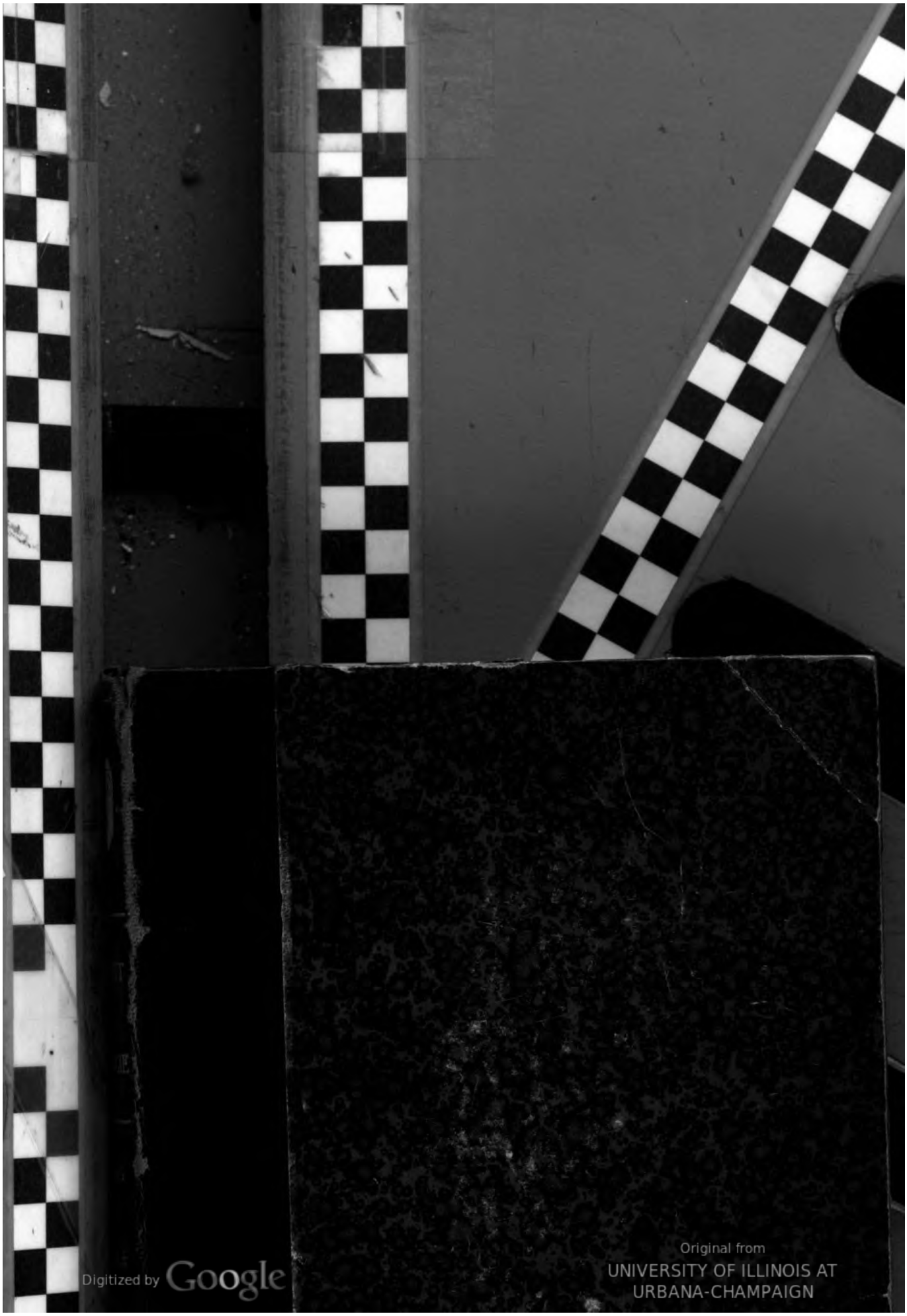

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

THE UNIVERSITY
OF ILLINOIS
LIBRARY

58905
C.E.
~~ser.2a~~
v.90

BIOLOGY

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel, Geh. Obermed.-Rat in Jena
Prof. Dr. M. Braun, Geh. Reg.-Rat in Königsberg
Prof. Dr. R. Pfeiffer, Geh. Med.-Rat in Breslau

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm, Geh. Reg.-Rat in Bamberg
Präsident Dr. A. Weber in Dresden
und
Prof. Dr. E. Gildemeister, Ober-Reg.-Rat, Berlin-Lichterfelde-W.

Erste Abteilung. 90. Band

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde

Originale

Mit 40 Abbildungen im Text und 3 Tafeln



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1923

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 90. Heft 1.

Ausgegeben am 15. Februar 1923.

589.05
CE

V.90

Nachdruck verboten.

Ein Beitrag zur Lebensfähigkeit der Bakterien.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Bonn (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. O. Neumann).]

Von Dr. **K. H. Kiefer,** Assistent des Institutes.

Das Material zu nachstehenden Untersuchungen stammt aus der Privatsammlung von Herrn Geh.-Rat Neumann, der es mir zur Bearbeitung übergab. Es handelt sich 1) um Agarkulturen in zugeschmolzenen Röhrchen und 2) um Erreger, die an Seidenfäden angetrocknet waren, beides durchschnittlich über 15 Jahre aufbewahrt.

I.

Die 1. Gruppe umfaßt 72 Schrägagar- und 1 Agarstichkultur. Auf Gestellen in zeitweise ungeheizten Sammlungsräumen aufbewahrt, waren sie dem durch die klimatischen Verhältnisse bedingten Wechsel der Lufttemperatur unterworfen. Der luftdichte Verschluß war nur in 2 Fällen verletzt und die dadurch hervorgerufene (geringgradige!) Austrocknung für das Absterben der Kulturen verantwortlich zu machen. Bei der großen Mehrzahl zeigte der Agar noch Reste des Kondenswassers. Der Bakterienrasen selbst erschien bei den alten Kulturen glanzlos, matt und trocken. Die Neuuntersuchung wurde immer eingeleitet durch Ueberimpfen von Bakterienmaterial in Bouillonröhrchen. Wo dies Verfahren keinen Erfolg hatte, überschichtete ich die alte Kultur mit Bouillon, was manchmal noch zum Ziele führte.

Als abgestorben, bzw. durch die angewandten Methoden nicht mehr weiterzüchtbar erwiesen sich folgende Stämme:

2	Streptokokkenkulturen	im	Alter	von	17 Jahren
3	Typhuskulturen	„	„	„	14 „
3	Schweineseuchekulturen	„	„	„	17 „
1	Pyocyaneus-Kultur	„	„	„	17½ „
1	Diphtheriekultur	„	„	„	17 „
1	Penicillium brevicaule-K.	„	„	„	19 „
23	Cholerakulturen	„	„	„	7—18 „

Von den lebend angetroffenen Kulturen beschreibe ich zunächst die Bakteriaceen (nicht sporentragende Stäbchen), die in Tab. I zusammengestellt sind.

Bei diesen 29 verschiedenen Arten zeigte das mikroskopische Bild der Urkultur einheitlich: morphologisch nicht wiederzuerkennende Reste von Bakterienleibern, die, zu unregelmäßigen Kugeln und Bruchstücken zerfallend, eine Art Detritus bildeten. Diese „Fragmentation" der Bakterien in alten Kulturen beschrieben Bließener, Schulz (zit. nach 1) und Müller (2). Nur in einzelnen meiner Kulturen war hin und wieder ein leidlich erhaltenes Stäbchen zu sehen, das auch — im Gegensatz zu dem Detritus — Fuchsin gut annahm. Im hängenden Tropfen konnte

540248

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

Nr.	Art	Alter Jahr	Alter Mon.	Nr.	Art	Alter Jahr	Alter Mon.	Nr.	Art	Alter Jahr	Alter Mon.
1	Bact. typhi	7	6	11	B. ent. Gärt.	17	—	21	Erreger der Ratten-seuche	17	7
2	„ „	13	11	12	B. paraty. B	16	3	22		17	8
3	„ „	14	3	13	dgl.	16	8	23		18	9
4	„ „	14	3	14	„	17	10	24	B. diphth. columbar.	17	10
5	„ „	14	4	15	„	18	7	25		17	10
6	„ „	17	—	16	B. Kaensche	17	6	26	Bact. coli	17	11
7	„ „	17	10	17	B. Basenau	17	—	27	„ „	17	11
8	„ „	17	10	18	B. Günther	17	6	28	Erreger der Hühnercholera	17	4
9	„ „	17	11	19	B. typhi murium	17	3	29		17	4
10	„ „	17	11	20		20	—				

ich jedoch auch hier nie Eigenbewegung erkennen. Es muß angenommen werden, daß bei einigen meiner Kulturen, in denen nur detritusartiges Material vorhanden war, aus diesen gänzlich zerfallenen Ueberresten die späteren normalen Individuen hervorgegangen sind [vgl. hierzu Gotschlich (1)]. Eine bei den Typhus- und Paratyphusstämmen vorgenommene Prüfung ergab gute Agglutinierbarkeit des Bakterienmaterials aus den Urkulturen. Die morphologischen, biologischen und kulturellen Eigenschaften sämtlicher Stämme wurden teils an der direkt von der Urkultur abstammenden Bouillon, oder an einer wieder von dieser Bouillonkultur abgeleiteten Generation auf festen Nährböden geprüft. Wo bei der Besprechung der einzelnen Arten nichts Besonderes erwähnt ist, war der Befund normal.

Die Typhusstämme ließen keine aus ihrem verschiedenen Alter herleitbaren Unterschiede erkennen. Morphologisch zeigte „Typhus 3, 7, 8, 9 und 10“ auch in späteren Kulturen neben typischen auch Zerfallsformen, wie in den Urkulturen. Es fand sich auch stets eine auffallend große Zahl von Bakterien, die entweder das Fuchsin überhaupt nicht oder nur abschnittweise annahmen. Ich möchte daraus auf eine gewisse Labilität des Stammes überhaupt schließen, die auf eine Schädigung durch die lange Hungerperiode zurückzuführen ist und die sich nach häufigerem Ueberimpfen teilweise wieder verliert. In Bouillonkulturen wurde überall Eigenbewegung der Bakterien festgestellt; diese war jedoch meist (ausgenommen „Typhus 2 und 6“) nicht sehr lebhaft. Im Gegensatz zu allen auf Tab. I aufgeführten Stämmen, war bei „Typhus 2, 7, 8 und 9“ ein Wachstum erst nach Ueberschichten der Urkultur durch Bouillon zu erreichen. Bei anderen Typhusstämmen (1 und 5) war das Wachstum verzögert, indem sich erst nach 3—4mal 24 Std. eine Trübung der Bouillon einstellte. Auf Endo-Nährböden und Gelatine ging das Material von der Urkultur nicht an, wohl aber auf anderen festen Nährböden, wie Aszites- und gewöhnlichem Agar. Die bereits umgezüchteten Stämme wuchsen auf Gelatine und Endo durchaus typisch, wie sich auch bei der Prüfung der chemischen Leistungen (Traubenzucker, Lackmusmolke, Milch, Neutralrot, Indol) keine Abweichung von der Norm zeigte. „Typhus 3 und 8“ wurden noch in einer Verdünnung von 1 : 5000 agglutiniert, alle anderen folgten bis zur Titergrenze des Serums (1 : 10000). Mit Ausnahme der nicht geprüften Virulenz zeigten also alle Typhuskulturen, deren älteste fast

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

18 Jahre alt waren, alle Eigenschaften frisch gezüchteter Stämme, bzw. erlangen sie wieder, wenn sie in günstige Medien verbracht werden.

Die Resistenz der Paratyphuserreger ist im allgemeinen größer als die der Typhusbazillen. Von letzteren fand Martini (3) auf Agarkulturen lebensfähige Individuen noch nach 3, Bolley (4) nach 4 Jahren. Paratyphusbakterien hielten sich in den Agarkulturen Martinis 3 Jahre, in den zum Teil gänzlich vertrockneten Kulturen Jürgens' (5) 5 Mon. Meine Paratyphusstämme zeigten alle lebhafteres Wachstum als die Typhuskulturen und gingen auch bei Uebertragen auf feste Nährböden (Endo etc.) an. Gelatinekulturen waren wenig gelappt, meist rundlich und ziemlich dicht gewachsen. Morphologisch und färberisch zeigten die einzelnen Individuen ein ähnliches Verhalten wie die der Typhuskulturen. Bei einer Titergrenze des Serums von 1:3000 wurden die Stämme „Paratyphus 12, 13, 14 und 15" noch in einer Verdünnung von 1:500, 1:1000, 1:2000 und 1:500 agglutiniert. Bei der ältesten Kultur („Bact. paratyphi 15") wurde die Virulenz geprüft, indem einer weißen Maus $^1/_{25}$ Normalöse (Czaplewski: kleinste Nummer) einer 18-stünd. Agarkultur subkutan eingeimpft wurde. Nach Fränken (6) tötet $^1/_{500}$ Normalöse, intraperitonenl eingebracht, eine Maus in 24 Std. „Bact. paratyphi 15" führte den Tod der Maus in weniger als 18 Std. herbei. Im Ausstrich des Herzblutes und der Milz fanden sich gramnegative Bakterien in nicht sehr großer Zahl; kulturell konnten hier die Erreger einwandfrei nachgewiesen werden. Aus dem Dünndarm, dessen Wand stark injiziert erschien, wuchsen fast Reinkulturen (im Gegensatz zum Dickdarm, wo sich Paratyphuskolonien nur vereinzelt fanden). Damit kann die Virulenz des $18^1/_2$ Jahre in der Agarkultur eingeschlossenen Stammes als erwiesen betrachtet werden.

Ueber die Lebensfähigkeit des Bact. enteritidis Gärtner fand ich in der Arbeit Martinis dieselben Angaben wie über Typhus. Von meinem 17 Jahre alten Stamme, der in allem normaltypisch war, ist nur zu erwähnen, daß auch in späteren Kulturen auffallend viele Degenerationsformen gefunden wurden. Dasselbe gilt auch für meine Stämme „Bac. Kaensche 16", „Bac. Basenau 17", „Bac. Günther 18".

Meine beiden Mäusetyphusstämme zeigten ihre Verwandtschaft mit Paratyphus darin, daß sie sehr üppig wuchsen, sich von der Urkultur direkt auf Endo weiterzüchten ließen und auf Gelatine wenig gelappte, rundliche Kolonien zeigten. Die Virulenz des 20 Jahre alten Stammes („Bact. typhi murium 20") wurde an einer weißen Maus nachgewiesen. $^1/_{20}$ Normalöse, in Bouillon aufgeschwemmt und subkutan einverleibt, tötete das Tier binnen 24 Std., nachdem Diarrhöe vorhergegangen war. In Blut und Milzausstrich massenhaft Gram-negative Bakterien, die sich in der Kultur als Mäusetyphuserreger herausstellten. In diesem Zusammenhange mag erwähnt sein, daß Mereshowski (7) in einer 8 Jahre alten Bouillonkultur lebensfähige und virulente Bact. typhi spermophilorum fand, die dem Mäusetyphuserreger sehr nahe verwandt oder sogar mit ihm identisch sind.

Von den 3 Stämmen Rattenseuche waren 2 als „Fütterungspassage 2" bezeichnet. Irgendwelche Besonderheiten wiesen sie nicht auf; ebensowenig wie die beiden Kulturen von Bac. diphtheriae columbarum.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bact. coli fand Bolley auf Agarkulturen noch nach 5 Jahren, 4 Mon. lebensfähig. Die mir vorliegenden, fast 18 Jahre alten Coli-Kulturen waren auch nach mehrfachem Umzüchten nicht zum Wachstum auf Endo-Nährböden zu bringen. Ferner trat in Bouillon erst nach 6 Tagen Indolbildung auf und auch dann zunächst sehr schwach.

Kulturen von Hühnercholeraerregern sind nach Kitts (8) Angaben ohne Umzüchtung ca. 6 Mon. virulent und keimfähig, wenn sie feucht aufbewahrt werden. Derselbe Autor versieht die Pasteursche Notiz, daß Hühnercholerakolonien „bei Licht- und Luftabschluß mehrere Jahre konservierbar seien", mit der Anmerkung, „wahrscheinlich ist gemeint mittels Umzüchtung". Bei den mir vorliegenden beiden — rund 18 Jahre alten — Kulturen gelang die Ueberimpfung von festem zu festem Nährboden schlecht. Gutes Wachstum zeigten dagegen Bouillonkulturen. Auch auf Aszites- und Blutagar wuchs aus Bouillon geimpftes Material leidlich. Minimale Spuren einer 16-stünd. Aszites-Agarkultur töteten einen Sperling, dem das Virus in die Brustmuskulatur eingebracht wurde, in 12 Std. Im Blute massenhaft polgefärbte, typische Hühnercholeraerreger.

Von Bacillaceen (Sporenträgern) befanden sich unter den mir zur Verfügung gestellten Kulturen auf Schrägagar 5 Milzbrandstämme und 1 Agarstich von Bac. tetani, die in Tab. II zusammengestellt sind.

Tabelle II.

Nr.	Art	Alter		Nr.	Art	Alter	
		Jahr	Mon.			Jahr	Mon.
1	Milzbrand von Menschen	16	3	4	Milzbrand von Rind	19	3
2	„ „ „	18	11	5	„ „ Ziegenhaaren	19	3
3	„ „ „	19	3	6	Tetanus	19	2

Ueber die Lebensfähigkeit von Bac. anthracis auf Nährböden fand ich 2 Literaturangaben. Szekely (9) beschreibt einen Milzbrand, der sich auf Nährgelatine $18^1/_2$ Jahre virulent gehalten hat. Derselbe erwähnt eine Notiz Duclaux; wonach in luftdicht abgeschlossener „Nährflüssigkeit" weiterzüchtbare Milzbrandbazillen nachgewiesen wurden. Bei meinen Stämmen zeigten sich in Ausstrichpräparaten von der Urkultur nicht nur zahlreiche Sporen, die sich mit der Sporenfärbmethode rot färben ließen, die Mehrzahl war blau gefärbt. An der ovalen Form ließ sich erkennen, daß es sich nicht um vegetative Formen, sondern um abgestorbene Sporen handelte. Eine Maus, die subkutan mit einer minimalen Menge in Bouillon aufgeschwemmten Materials von der Urkultur („Milzbrand von Menschen 3") geimpft war, starb in 14 Std. Milz und Blut waren überschwemmt von Unmassen bekapselter Milzbranderreger. Nach Verfütterung desselben Materials ließ sich nach 10 Tagen keine Infektion feststellen. Dagegen tötete derselbe Stamm nach einmaliger Umzüchtung in Bouillon eine Maus, die bakterienhaltiges Brot gefressen hatte, in $4^1/_2$ Tagen.

Die Stichkultur von Bac. tetani wies nur ganz vereinzelte Sporen auf. Weiterzüchtung in Bouillon gelang ebenso auf Agar unter anaëroben Verhältnissen. Spuren von Material aus der Urkultur einer Maus subkutan einverleibt, verursachte nach 48 Std. typische Krämpfe. Der Tod

Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

trat nach ungefähr 62 Std. in sogenannter „Robbenstellung“ [Lehmann-Neumann (10)] ein.

II.

Die an Seidenfäden angetrockneten Erreger waren zum Teil in zugeschmolzenen Glasröhrchen, zum anderen Teil in Tierkapseln aufbewahrt. Folgende Tab. III gibt eine Uebersicht über das Material.

Tabelle III.

Nr.	Erreger	Art der Aufbewahrung	Zahl der Stämme	Art des Materials	Alter	
					Jahr	Mon.
1	Strept. lanceolatus	Glasröhrchen	1	Tierblut	17	.
2	„ „	„	3	„	16	7
3	„ „	„	1	Kulturmaterial	17	.
4	„ mucosus	„	5	Tierblut	16	7
5	„ „	„	8	„	16	6
6	„ „	„	4	„	14	2
7	Microc. tetragenus	Papierkapsel	1	„	14	3
8	Hühnercholera	Glasröhrchen	2	„	16	7
9	Milzbrand	Papierkapsel	1	Kulturmaterial	16	.
10	„ an Glassplittern	„	1	„	16	.
11	„ (Seidenfäden)	„	1	„	18	9
12	„	„	1	„	31	10

Bei Nr. 1—10 erwiesen sich sowohl im Tierexperiment wie in der Bouillon die Erreger als abgestorben.

„Milzbrand 11 und 12“ dagegen wuchsen in Bouillon nach 48 Std. zu langen (Pseudo-)Fäden aus. Koch (zit. nach 9) fand an Seidenfäden angetrocknete Sporen noch nach 4 Jahren, di Mattei (zit. nach 9) nach 10 Jahren, Ajello und Dra'g'o (zit. nach 9) nach 13 Jahren, Lehmann und Neumann (11) nach 15 Jahren, B. Fischer [zit. bei Bitter (11)] nach 28 Jahren. Mein „Milzbrand 12“ ist fast 4 Jahre älter als der Fischersche. Kapseln konnten bei ihm nicht nachgewiesen werden, gleichwohl war er virulent. Ein Stück Seidenfaden einer Maus unter die Haut gebracht, tötete diese in 36 Std. Das Blut und die Organe des Tieres waren mit zahllosen Milzbrandbakterien durchsetzt.

Literaturverzeichnis.

1) Gotschlich, in Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikroorg. Bd. 1. 1912. — 2) Müller, In Handb. d. Hyg. v. Rubner, Gruber u. Ficker, Bd. 3. Abt. I. S. 72. — 3) Martini, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 65. S. 121. — 4) Bolley, Centralblatt f. Bakt. Abt. II. Bd. 6. 1900. S. 33. — 5) Jürgens, zit. nach Kolle-Wassermann, 1. Erg.-Bd. — 6) Fränken etc., Handb. d. Hyg. v. Rubner, Gruber u. Ficker, Bd. 3. Abt. II. S. 125. — 7) Mereshowski, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. S. 1. — 8) Kitt, Kolle-Wassermann, Bd. 6. S. 48. — 9) Székely, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 44. 1903. S. 359. — 10) Lehmann u. Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 6. Aufl. 1920. S. 489. — 11) Bitter, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 69. S. 510.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber den Typhusbakteriophag[1]).

[Aus dem Hygienischen Laboratorium der Amsterdamer Universität (Direktor: Prof. Dr. R. H. Saltet).]

Von Dr. **J. W. Janzen** und **L. K. Wolff.**

d'Herelle hat in seinem Buche erwähnt, daß er sowohl eine Hühnerkrankheit wie auch die menschliche Dysenterie durch einen spezifischen Bakteriophagen sehr günstig beeinflußt hat. Es würde vielleicht möglich sein, so etwas auch beim Abdominaltyphus zu erreichen[2]), wozu wir diesen Bakteriophagen genauer untersucht haben.

Zunächst seien einige Punkte aus der Technik erwähnt: Typhusbakteriophag wird regelmäßig gefunden im Stuhl von genesenden Typhuspatienten. Dazu bringt man etwas Kot in ein Kölbchen Bouillon, bebrütet dieses bei 37° C während 12—24 Std., filtriert erst durch ein Papierfilter, welcher dünn mit Kieselgur bedeckt ist, und dann durch eine Berkefeld- oder Chamberland-Kerze. Man kann dann das Filtrat untersuchen. Man stelle immer 3 Proben an, nämlich die Auflösung von jungen Bakterien in Bouillon, die Hemmung des Wachstums darin und besonders die Bildung kleinerer Inseln auf der Agarplatte („Plages"); die 3 Proben müssen dann noch in verschiedenen Verdünnungen ausgeführt werden. Für einen nicht Geübten ist es oft unmöglich, die Inseln in einer Verdünnung 1:10 zu sehen, während in einer Verdünnung von 1:100 000 z. B. die Inseln leicht aufzufinden sind. Die Auflösung der lebenden Bakterien erfordert dauernde Beobachtung; es kommt vor, daß die trübe Suspensionen schon nach 8 oder 12 Std. geklärt, nach 24 Std. aber schon wieder getrübt sind durch das Anwachsen der resistenten Kultur. Auch die Hemmung des Wachstums muß in verschiedenen Verdünnungen beobachtet werden; im Kot kommen nämlich vielfach Stoffe vor, die nicht mit dem Bakteriophagen verwechselt werden dürfen und selbst in einer Verdünnung von 1:10 Hemmung des Wachstums von Bakterien hervorrufen.

Um gute Bildung der „Inseln" zu erhalten, sind immer trockene Agarplatten oder Röhrchen zu nehmen, da sonst die „Inseln" verwischt werden. Dann und wann kommt es vor, daß die „Inseln" nach 48 Std. besser als nach 24 Std. aufgefunden werden können; die zweiten 24 Std. soll man die Agarplatte bei Zimmertemperatur aufbewahren.

Es sind verschiedene Mitteilungen in der Literatur veröffentlicht worden, mit ungünstiger Kritik der Arbeiten von d'Herelle, nur weil man durch Nichtbeobachtung des oben Erwähnten zu falschen Schlüssen gekommen ist.

Will man die Bakteriophagenkeime zählen, so mache man Verdünnungen der den Bakteriophagen enthaltenden Lösung in Suspensionen in Bouillon von jungen Bazillen; $^1/_{10}$ ccm jeder Verdünnung streiche man auf eine Agarplatte aus und zähle die Inseln der Platte, auf welcher sie gut sichtbar sind.

Wir haben 4 Bakteriophagenstämme[3]) aus verschiedenen Typhusfällen isoliert und dieselben untersucht in bezug auf 28 Typhusstämme (welche meistens aus unserer Sammlung stammten; einige aber waren frisch isoliert).

Die Tabelle spricht für sich und braucht nur wenig Erklärung. 6 der 28 Stämme wurden von keinem unserer Bakteriophagen be-

1) Vgl. auch die 3 vorläufigen Mitteilungen in „Verslagen van de Kon. Akadem. van Wetenschapp. 1922".

2) Erst nach Beendigung dieser Studie haben wir erfahren, daß Borrel in einigen Fällen sehr gute Resultate beim Abdominaltyphus bekommen hat mit oralen und subkutanen Dosen von Bacteriophagum antityphoideum.

3) Einer der untersuchten Bakteriophagen stammte aus dem Kote eines gesunden Menschen, der vor 40 Jahren Typhus gehabt hatte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

I. Lösung von jungen Typhusbazillen in Bouillon verteilt.
II. Hemmung des Wachstums von Typhusbazillen.
III. Formung von Inseln („plages") auf der Agarplatte, auf die etwas aus Röhrchen I ausgestrichen war.

	Bakteriophag Wi				Bakteriophag Sm				Bakteriophag Re				Bakteriophag M VI				
	I	II	III		I	II	III		I	II	III		I	II	III		
Sm	±	+	+		+	+	+				+		+	+	+		A
Wi	+	+	+		±	+	+				+		+	+	+		
M																	B
1																	B
3																	
7																	B
8																	
9	+	+	+						±	+	+		+	+	+		A
10		±								±							B
11	+	+	+		+	+	+				+						
12																	
13	·	·	·														
14	+	+	+		+	+	+		+	+	+						A
15		±															B
16																	
17		±	+				+				+		+	+	+		A
19		±															B
20																	
22	+	+	+		+	+	+		+	+	+		·	·	·		
23	+	+	+							+			+	+	+		
24																	
25	+	+	+				+				+						A
26	+	+	+		+	+	+		+	+	+						A
27																	
29																	
31		+	+		±		+			+	+						A
32		+	+				+			+	+						A
33																	

Alle Resultate nach 24 Std.: A mit allen Stämmen positiv, B mit allen Stämmen negativ.

einflußt, waren also an sich resistente Stämme. Einer dieser sechs stammte aus dem Kote einer Bazillenträgerin (vor ± 25 Jahren Typhus),

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einen zweiten isolierten wir aus einem frischen Typhusfall (der darauf isolierte Bakteriophag hatte auch keine Wirkung auf den eigenen Bazillus); von den 4 anderen Stämmen wissen wir nichts Genaueres (nur agglutinierten alle Stämme mit einem hoch agglutinierenden Serum bis an die Titergrenze (1:40000). Weiter wurden 8 Stämme durch alle 4 Bakteriophagen beeinflußt; die anderen 14 wurden abwechselnd von dem einen oder von dem anderen aufgelöst. Jeder Bakteriophag hat also seine Individualität; keiner gleicht dem anderen. Der Bakteriophag Wi ist der stärkste; dieser wirkt auf 18 Stämme ein; die anderen haben nur Wirkung auf 16 und 14 Stämme.

Doch bestand ein Typhusstamm (1), der nicht von Wi, wohl aber von M VI (dem schwächsten) beeinflußt wurde.

Wir haben versucht, unsere Bakteriophage zu verstärken, indem wir sie öfters auf denselben Bazillenstamm überimpften, haben aber keine nennenswerte Verstärkung konstatieren können; jeder der Bakteriophagen behielt seinen eigenen Charakter.

Bei diesen wiederholten Ueberimpfungen muß man dafür sorgen, den Bakteriophag nicht zu verlieren; dieses kann leicht passieren, wenn man zu dicke Suspensionen verwendet, und der Bakteriophag von schwächerer Wirkung ist.

Wir haben ferner noch versucht, den Bakteriophagen auf einem anderen Typhusstamm zu züchten; auch dann behielt er seine individuellen Eigenschaften; nur trat in einem Falle eine Verstärkung ein. In unseren Versuchen mit Typhusbakteriophagen zeigte sich also, daß die Eigenschaften des Bakteriophagen nicht abhängig von dem Bakterienstamme sind, worauf er gezüchtet wird.

Tabelle II.

Wirkung des Bakteriophagen Sm in den Generationen 6 und 10 auf 4 Typhusstämme:

I = Auflösung, II = Hemmung, III = Inselformung.

	Generation 6			Generation 10		
Stämme	I	II	III	I	II	III
Wi	—	++	—	—	++	—
23	++	++	+++	++	++	+++
24	—	—	—	—	—	—
25	++++	++++	++++	++++	++++	++++

Tabelle III.

Wirkung des Bakteriophagen, nachdem dieser auf verschiedenen Typhusstämmen gezüchtet worden ist.

1) Bakteriophag Re sofort aus Kot

Typhusst.	I	II	III
Wi	—	—	—
I	—	+++	+++
24	—	—	—
27	—	—	—
29	—	—	—

2) Bakteriophag Re, nachdem er auf Typhusstamm Sm gezüchtet worden ist

I	II	III
—	—	—
—	++++	++++
—	±	++++
—	—	—
++	+++	++++

3) Bakteriophag Wi sofort aus Kot

Typhusst.	I	II	III
Wi	++++	++++	++++
1	—	—	—
24	—	++	++++
27	—	±	++++
29	—	+++	++++

4) Bakteriophag Wi, nachdem er auf Typhusstamm Wi gezüchtet worden ist

I	II	III
++++	++++	++++
—	—	—
—	++	++++
—	±	++++
—	+++	++++

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

5) Bakteriophag Wi, nachdem er auf Typhusbazillus Sm gezüchtet worden ist.

Typhusst.	I	II	III
Wi	++++	++++	++++
1	++++	++++	++++
24	—	+++	++++
27	—	±	++++
29	++	++++	++++

Doch muß man sich vorsehen, hierbei zu generalisieren. Wir haben dieselben Versuche gemacht mit 2 Bakteriophagen, welche frisch aus Kot isoliert, sowohl auf Typhus- wie auf Coli-Bazillen einwirkten. In beiden Fällen verloren unsere Bakteriophagen nach einigen Umzüchtungen ihre typhuslysogenen Eigenschaften, sobald sie auf Coli-Bazillen gezüchtet wurden; dagegen ihre colilysogenen Eigenschaften, sobald sie auf Typhusbazillen gezüchtet wurden. Uebrigens haben wir im ursprünglichen Fäzesfiltrat bestimmt, wieviel Coli- resp. Typhusbakteriophagkeime anwesend waren; wir fanden 100mal mehr Typhus- als Coli-Bakteriophagkeime. Umgekehrt hat d'Herelle erwähnt, daß er in einigen Fällen Bakteriophagen viele Male auf einem bestimmten Bakterium gezüchtet habe und daß nachher dieser Bakteriophag genau so wie der ursprüngliche Stamm auf ein anderes Bakterium einwirkte.

In unseren Fällen schien es aber, als wenn in dem Kote 2 Bakteriophagen waren, die beide nur auf den homologen Stamm einwirkten.

Wir haben schon oben erwähnt, wie nach unserer Meinung die Bildung von Inseln auf der Agarplatte von großer Wichtigkeit für die Technik der Bakteriophagenuntersuchung ist. Diese Inseln haben verschiedene Größe in den verschiedenen Versuchen; man kann sehr kleine antreffen (Diam. $^1/_2$ mm), aber auch viel größere (Diam. 2—5 mm).

Bail und Watanabe[1]) haben dies zuerst mitgeteilt; sie erwähnen, daß es ihnen in ihrem Falle gelungen sei, die kleinen Inseln reinzuzüchten, nicht aber die großen.

Wir hatten diesen Unterschied schon vor der Mitteilung von Bail beobachtet; nur kommt es ziemlich selten vor, daß ein Bakteriophag mit einem bestimmten Typhusstamme sowohl große wie kleine Inseln bildet. So haben wir einen Fall untersucht, wo der Bakteriophag mit anderen Typhusstämmen nur Inseln von gleicher Größe, mit seinem eigenen Typhusstamm aber Inseln von verschiedener Größe bildete.

Wir haben dann den Versuch von Bail zu wiederholen versucht, sind aber zu anderen Schlüssen gekommen. Wir haben den Bakteriophagen 10mal übergeimpft auf den oben erwähnten Typhusstamm, aber in 2 Serien, indem wir in der einen Serie immer nur kleine Inseln überimpften, in der anderen aber nur große. Schließlich haben wir die Wirkung der 2 Bakteriophagen erprobt auf 4 verschiedene Typhusstämme.

Resultat siehe in Tab. IV.

In unseren Fällen wurde die Größe der Inseln nicht bedingt durch den Bakteriophag, sondern durch die Typhusstämme. Derselbe Bakteriophag macht immer wieder mit einem Stamme große, mit dem anderen kleine Inseln, mit einem 3. macht er sowohl große wie kleine.

Und auch die 10 Ueberimpfungen von nur großen oder kleinen Inseln haben an dieser Tatsache nichts ändern können. Wir meinen daher, daß wenigstens für unseren Fall die Größe der Inseln bestimmt

1) Wien. klin. Wochenschr. 1922.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wird durch die Virulenz des Bakteriophagen gegenüber dem Bazillus; bei kleinen Inseln finden wir im allgemeinen wenig Hemmung des Wachstums und keine Auflösung, bei großen Inseln starke Hemmung und Auflösung.

Tabelle IV.

Wirkung vom Bakteriophagen Wi (groß 10) auf 4 verschiedene Typhusstämme.

	1. Auflösung	2. Hemmung	3. Inselformung	
Typh. 9	++++	++++	++++	sehr große Insel
„ 17	+++	++++	++++	große Insel
„ 27	—	±	++++	sehr kleine Insel
„ Wi	++++	++++	++++	große und kleine Insel

Wirkung vom Bakteriophagen Wi (klein 10) auf 4 verschiedene Typhusstämme.

	1. Auflösung	2. Hemmung	3. Inselformung	
Typh. 9	++++	++++	++++	sehr große Insel
„ 17	+++	++++	++++	große Insel
„ 27	—	±	++++	sehr kleine Insel
„ Wi	++++	++++	++++	große und kleine Insel

Wir haben oben erwähnt, daß wir einige Typhusstämme gefunden [1]) haben, welche an sich resistent waren gegen den Bakteriophag. Auch oft wiederholte Ueberimpfungen der Bazillen haben diese Resistenz unverändert gelassen; und zwar im Gegensatz zu dem, was d'Herelle mitteilt über die durch die Einwirkung des Bakteriophagen resistent gewordenen Bazillen, die ihre Resistenz nach wenigen Ueberimpfungen verlieren. Auch haben wir bis heute noch keinen Bakteriophag gefunden oder einen bestehenden so verstärken können, daß er auf diese Bakterien einwirkt [2]). Nur haben diese resistenten Bakterien im Gegensatz zu den anderen das Vermögen, den Bakteriophag sehr schnell zu vernichten, indem sie denselben gerade so absorbieren wie die nicht resistente Bazillen, aber ihn dann nicht wieder loslassen (d'Herelle hat analoge Erscheinungen mit induziert resistenten Bazillen mitgeteilt). Es ist nicht schwer, auf diese Weise in wenigen Ueberimpfungen den Bakteriophag zu vernichten.

Auch ältere Bazillen, die nicht von Bakteriophagen aufgelöst werden, absorbieren den Bakteriophag; derselbe kommt aber wieder frei, wenn die Bazillen imstande sind, sich zu teilen und so wieder jung zu werden.

---

1) Anmerkung bei der Korrektur: Inzwischen haben wir gefunden, daß der Typhusstamm Wi in zwei Komponenten zu zerlegen ist, von deren der eine resistent gegen den Bakt. Wi ist, der andere aber leicht von Wi angegriffen wird. (Siehe auch Gratia Ueber den Coli-Bakteriophagen Journ. of exp. Med. 34. S. 115; 35. S. 287.)

2) Anmerkung bei der Korrektur: Inzwischen haben wir von d'Herelle 6 Typhus-Bakteriophagestämme bekommen; wir haben auch diese, speziell gegenüber unseren resistenten Keimen, untersucht und folgendes gefunden:

Typhusstamm	Bakteriophag d'Herelle					
	1	2	3	4	5	6
M	—	—	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+
8	+	+	—	—	—	—
16	+	+	+	+	+	+
20	—	—	+	+	+	+

Wir sehen, daß auch diese Stämme nicht alle Typhusbakterien angreifen; es bestehen also 2 Gruppen, 1 und 2 bzw. 3, 4, 5 und 6, von denen die eine Gruppe, Typhus 8, die andere Typhus M und 20 unberührt läßt.

Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tab. V zeigt dies alles. Bei den resistenten Stämmen sieht man nach 1 Std. regelmäßig eine geringe Vermehrung des Bakteriophagen eintreten, nachdem derselbe durch Absorption sehr stark an Zahl zurückgegangen ist. Diese Vermehrung kann leicht erklärt werden durch die Annahme, daß auch die resistenten Stämme einige schwächere Nachkommen haben, welche durch den Bakteriophagen aufgelöst werden können, wodurch dieser sich vermehrt; diese Bakteriophagen werden dann wieder von den stärkeren Brüdern vernichtet.

Tabelle V.

Versuchsreihe I.

Resistenter Stamm = T 20. Nicht resistenter Stamm = T Wi.
Bestimmung der Anzahl der Bakteriophagenkeime durch Zählung der Inseln (auf der Agarplatte) nach Auszentrifugieren der Bazillen. Bakteriophag = Wi.
Man tut bei gleich trüben Suspensionen von T 20 und T Wi eine gleiche Quantität Bakteriophag Wi.

	T 20	Wi
Sofort	(18 Milliarden)	18 Milliarden
Nach 1/4 Std.	0,6 „	0,28 „
„ 3/4 „	2,4 „	∞
„ 1 1/2 „	0,8 „	∞
„ 24 „	0,02 „	

alles in 1 ccm

Versuchsreihe II.

Bakteriophag Sm.

	T 20	Sm
Sofort	(30 Milliarden)	30 Milliarden
Nach 1/4 Std.	1,7 „	4 „
„ 1 „	4 „	100 „
„ 24 „	1,8 „	∞

alles in 1 ccm

Nach 1 Woche war die Anzahl der Bakteriophagenkeime bei den resistenten Stämmen ungefähr gleich wie nach 24 Std.; bei den nicht resistenten Stämmen hatte sich der Bakteriophag noch stark vermehrt.

Tabelle VI.

Verschwinden des Bakteriophagen aus einem Gemisch von resistenten Bazillen und Bakteriophagen durch Ueberimpfung.

	Versuchsreihe I	Versuchsreihe II
Impfung 1	60 Milliarden in 1 ccm	18 Milliarden in 1 ccm
„ 2	24 „ „ 1 „	0,02 „ „ 1 „
„ 3	1/4 „ „ 1 „	verschwunden
„ 4	verschwunden?	„
„ 5	verschwunden	

Tabelle VII.

Dasselbe Experiment wie oben in Tab. VI, aber mit alten, nicht resistenten Bazillen.

A. 14 Tage alte Bazillen Sm in Bouillon egal trüber Suspensionen.
B. 6 Std. „ „ „ „ „ „ „ „
Bakteriophag Sm.

	A	B
Sofort	(30 Milliarden)	30 Milliarden
Nach 1/4 Std.	4 „	6 „
„ 3/4 „	2 „	800 „
„ 2 „	32 000 „	∞

Für die Epidemiologie des Abdominaltyphus ist es von Wichtigkeit, wie sich die Infusorien dem Bakteriophagen gegenüber verhalten. Es

Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

könnte sein, daß die Vernichtung von Typhusbazillen in Wasser nicht nur von Infusorien abhängig wäre, sondern auch von Bakteriophagen, deponiert mit dem Kot. Tatsächlich lassen die Infusorien den Bakteriophag unberührt, wie sich aus den in Tab. VIII wiedergegebenen Versuchsreihen zeigt. Diese Wirkung wird in erster Linie von den Infusorien abhängen, da bei der großen Spezifizität des Bakteriophagen nur einzelne Stämme beeinflußt werden.

Tabelle VIII.

Suspension von toten Typhusbazillen in Salzlösung (tote Bazillen absorbieren den Bakteriophag nicht). Die Suspension wurde in 3 Teile geteilt: Portion I wird gemischt mit 2 ccm Kanalwasser, Portion II mit demselben Wasser und einer geringen Quantität Bakteriophagen, Portion III mit derselben Quantität Bakteriophagen, aber ohne Kanalwasser. Alle 3 Proben bei 24° C. Nach 9 Tagen waren I und II klar geworden, und es konnten in beiden leicht Flagellaten nachgewiesen werden. Jetzt wurden Verdünnungen gemacht und auf die oben beschriebene Weise die Anzahl der Bakteriophagkeime gezählt:

Portion	I	keine	Insel			
„	II	71	Inseln	in	1 : 400 000	ccm
„	III	380	„	„	1 : 400 000	„

Ein 2. Versuch (nach 14 Tagen Aufhellung) lieferte folgende Zahlen:

Portion	I	keine	Insel			
„	II	120	„	in	1 : 4 000 000 000	ccm
„	III	50	„	„	1 : 4 000 000 000	„

Diese Zahlen sind von derselben Größenordnung.

Es bleiben noch viele Fragen über den Typhusbakteriophagen ungelöst, wovon wir einige, u. a. der Bakteriophag beim Bazillenträger, in Angriff genommen haben. Diese Versuche sind aber noch nicht zum Abschluß gekommen. Deutlich hat sich aber durch unsere Versuche gezeigt, daß man in diesem neuen Gebiete nicht generalisieren darf.

Gerade bei der dadurch bedingten Vewickeltheit dieses Gebietes haben wir eine außerordentliche Bewunderung für seinen Bahnbrecher d'Herelle.

Nachdruck verboten.

Eine neue Art des Paradysenteriestäbchens[1]).

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität Woronesch, Rußland.]

Von Prof. Dr. **M. J. Stutzer.**

Mit 1 Abbildung im Text.

Anfang 1917 wurde dem Bakteriologischen Laboratorium im Kriegsgefangenenlager Hammerstein (W.-Preußen) eine Anzahl Exkrementproben zugestellt, in denen bakteriologische Untersuchungen die Anwesenheit von eigenartigen Stäbchen ergaben. Einige Eigenschaften dieser Mikroorganismen ließen voraussetzen, daß sie zur Gruppe der Dysenterie-

1) Autoreferat der Arbeit in Wratschebnoje Delo. 1920. Nr. 7—8.

Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

bazillen gehören, aber von allen in der Literatur bekannten Abarten der Dysenteriebazillen zu unterscheiden sind.

Da der neue Mikroorganismus nicht nur in einzelnen Proben, sondern in vielen Stühlen gefunden worden war und außerdem in Exkrementen, die schon nach ihrem Aeußeren und Charakter Verdacht auf Dysenterie erregten, mußte vorausgesetzt werden, daß er der Erreger einer klinisch der Dysenterie nahestehenden Darmkrankheit sein könnte.

Ende Februar desselben Jahres bestätigten die Resultate des vorläufigen Studiums des neuen Mikroorganismus unsere anfängliche Annahme so weit, daß ich mit Einverständnis des Lagerhygienikers, Prof. Dr. K. Baerthlein, alle Stuhlproben, in welchen dieses neue Stäbchen vorgefunden wurde, als dysenteriepositiv bezeichnete, und dem Mikroorganismus den Namen „Bacillus paradysenteriae X“ gab.

Von allem die Bazillen X enthaltenden Material zeigten 72 Proz. pathologischen Charakter, zudem trug der Stuhl in 25 Proz. aller Fälle den der Dysenterie eigenen Charakter und war blutig oder blutigschleimig. Eine noch größere Zahl der Proben war von flüssiger Konsistenz. Im normalen Stuhl fanden sich auch X-Bazillen, aber hauptsächlich bei Kriegsgefangenen im Quarantänelager, die kurz zuvor von der Front oder mit Arbeitskolonnen gekommen waren, so daß sie als X-Bazillenträger angesehen werden konnten.

Ihren morphologischen Eigenschaften nach unterscheidet sich der Bazillus X nur wenig von den Dysenteriestäbchen des Typus Shiga-Kruse, Flexner oder Y. Es ist ein kleines Stäbchen mit abgerundeten Enden, unbeweglich, gramnegativ, welches sich einzeln, manchmal auch paarweise vorfindet und keine Sporen bildet. Kolonien des Bazillus X auf Agar zeigen äußerlich große Aehnlichkeit mit anderen Dysenteriekolonien.

Man kann 3 verschiedene Grundarten von Kolonien unterscheiden: 1) runde, mit glatter Oberfläche, durchsichtige, weißliche Kolonien von ca. 2 mm im Durchm.; 2) etwas kleinere, halbdurchsichtige, trübe Kolonien, ebenfalls mit glattem Rande und glänzender Oberfläche, 3) größere Kolonien mit feinkörniger Oberfläche, welligem Rande und einer kleinen Erhöhung im Zentrum. Mit Hilfe eines nach Baerthlein ausgeführten Mutationsversuches kann man sich leicht überzeugen, daß alle diese Typen von Kolonien des Baz. X Varietäten von Kolonien ein und derselben Mikroorganismus sind.

Auf Endo-Agar ist das Wachstum des Bazillus X nur üppig, wenn die Alkalität auf 2,5—3 ccm 10-proz. Sodalösung für 100 g Nährböden eingestellt ist. Größere Alkalität ist dem Wachstum der Bakterien schädlich, das bei Zusatz von 6 ccm einer 10-proz. Sodalösung ganz aufhört. Saure Reaktion des Nährbodens verträgt er überhaupt nicht. Auf Lackmus-Nutrose-Milchzuckernährboden nach Conradi-Drigalski entwickelt sich der Baz. X ganz gut, wird aber beim Zusatz von Kristallviolett zum Nährboden in seiner Entwicklung gehemmt, weshalb es ratsam ist, im Falle einer Reinzucht dieser Abarten von Dysenteriestäbchen aus dem Stuhl den Nährboden von Conradi-Drigalski ohne Zusatz von Kristallviolett anzuwenden. Zu bemerken und zu unterstreichen ist der besonders spezifische Geruch, der überhaupt allen Kolonien von Dysenteriestäbchen eigen ist. Gelatine wird nicht verflüssigt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Verschiedenheit des Baz. X von allen anderen Abarten der Dysenteriestäbchen tritt besonders scharf hervor, wenn man die biologischen Eigenschaften dieser Bakterien in einer Reihe von Nährböden, die gewöhnlich zur Differenzierung von Darmmikroorganismen angewendet werden, vergleicht.

Die Tabelle gestattet, die biologischen Eigenschaften der hauptsächlichsten Abarten von Dysenteriestäbchen zu vergleichen.

	Bouillon-Indol-Reaktion	Barsiekow mit Glukose	Barsiekow mit Milchzucker	Hetsch-Nährboden mit Mannit	Bouillon mit Traubenzucker	Lackmusmolke	Lackmus-Maltose-Agar	Lackmus-Saccharose-Agar
Bazillus X	+	rot	0	0	bildet kein Gas	Häutchen fast unveränd.	0	0
Bac. dys. Shiga	—	„	0	0		rot	0	0
„ „ Y	±	„	0	rot		„	0	0
„ „ Flexner	±	„	0	„		„	rot	0

Nach 48 Std. wird die Lackmusmolke blaßblau; es hat sich also etwas Alkali gebildet.

Die größte Aehnlichkeit in seinem Verhältnis zu den verschiedenen Nährböden hat der Baz. X mit dem Dysenteriebazillus Shiga-Kruse, aber die Bildung von Indol ist nur dem Baz. X eigen. Bekanntlich bildet das Dysenteriestäbchen Shiga-Kruse niemals Indol, während für den Bazillus X die Indolreaktion absolut beständig ist. Die Indolreaktion in der Bouillonkultur trägt für den Bazillus X manchmal den Charakter einer Nitroso-Indolreaktion, da die Rötung des Nährbodens ohne Zusatz von Natriumnitrit vor sich gehen kann, doch wird das Rotwerden des Nährbodens nach Zusatz von einigen Tropfen einer Natriumnitritlösung viel intensiver.

Bei dem Studium der ätiologischen Rolle des Baz. X im Gebiete der Immunität stößt man auf schwer erklärliche Tatsachen: so agglutiniert das Serum der Dysenteriekranken, aus deren Stuhl der Baz. X reingezüchtet war, dieses Stäbchen auch dann nicht, wenn das Serum und die Kultur von ein und demselben Kranken stammen.

Experimentell bilden sich im Tierblut die Agglutinine für den Baz. X leicht und in großen Mengen. So lieferte ein gegen Baz. X intravenös immunisiertes Kaninchen nach 3-maliger Injektion von X-Bakterien ein Serum mit dem Titer 1 : 1500. Alle Kulturen des Baz. X wurden von diesem Serum bis zur Titergrenze agglutiniert.

Die Dysenteriestäbchen des Typus Shiga-Kruse werden durch dieses Serum bei Verdünnung 1 : 100 nicht agglutiniert, und umgekehrt agglutiniert Shiga-Kruse-Serum keine Bazillen des Typus X. Daraus folgt, daß die Bazillen Shiga-Kruse und X zwei ganz verschiedene Mikroorganismen sind, obwohl sie eine bedeutende Aehnlichkeit im Wachstum auf den Nährböden zeigen.

Weitere Versuche mußten das Verhältnis des Baz. X zu anderen Arten der Dysenteriebazillen feststellen. Zu diesem Zweck wurde Immunserum, welches den Baz. X in Verdünnung von 1 : 1500 agglutiniert, verwandt und versucht, mit diesem Serum die Y-Stäbchen, Flexner und Strong zu agglutinieren. Das Resultat war, daß keine Gruppen-

Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

reaktion zwischen diesen Bakterien und den Kulturen des Baz. X existiert. Normales Kaninchenserum enthält nur um ein Geringes weniger Agglutinine für Dysenteriestäbchen als ein Baz. X-Immunserum. Das Fehlen einer Gruppenagglutination zwischen Baz. X und anderen Dysenteriebazillen wird ebenfalls durch den Versuch, verschiedene Baz. X-Kulturen durch Shiga-Kruse, Y und Flexner agglutinierende Sera zu agglutinieren, bestätigt.

Aus alledem geht hervor, daß der Baz. X sich von allen bekannten Dysenteriebazillen unterscheidet und allein dasteht. Den bekannten Dysenteriestäbchen nähert sich der neue Mikroorganismus durch seine morphologischen Eigenschaften, den Charakter seines Wachstums auf Nährböden, sein Aussehen und den Geruch seiner Kolonien sowie, wie aus dem weiteren zu ersehen ist, durch das klinische Bild der durch ihn hervorgerufenen Erkrankung.

Während die Reaktion der Agglutination eine scharfe Grenze zwischen dem Baz. X und anderen Dysenteriebazillen zieht, finden sich in unbedeutenden Mengen komplementbindende Substanzen im Serum der X-Bazillenkranken.

Versuche, im Blute von Kranken spezifische Präzipitine gegen den Baz. X aufzufinden, schlugen fehl.

Die angeführten serologischen Beobachtungen enthielten so wenige Angaben, welche die ätiologische Rolle des Baz. X bestätigten, daß sogar Zweifel entstand, ob gerade dieser Mikroorganismus eine dysenterieähnliche Darmkrankheit in den Kriegsgefangenenlagern hervorgerufen hat. Aber die bakteriologische Untersuchung des Darminhaltes der Dysenteriekranken und besonders der an dieser Krankheit Verstorbenen überzeugten, daß gerade der Baz. X diese Krankheit hervorgerufen hatte. Bakteriologische Untersuchungen des Sektionsmateriales, welches stets den Baz. X aufwies, sprechen überzeugend für die ätiologische Rolle desselben.

Weshalb bilden sich denn im Blute der Kranken, bei denen ein pathologischer Prozeß in der Schleimhaut des Darmes durch den Baz. X hervorgerufen ist, keine Agglutinine? Die Antwort auf diese Frage muß wahrscheinlich in der Analogie zwischen dieser Krankheit und der Cholera asiatica gesucht werden. Der Baz. X und der Choleravibrio besitzen ein ausgesprochenes Vermögen zur Nitroso-Indol-Reaktionsbildung. Zu bemerken ist, daß sich gerade bei Cholera im Blute der Kranken keine Agglutinine bilden, oder im positiven Falle in geringem Maße (Kopp u. Svenson, Kolle u. Wassermann, Handb. d. B., Bd. 4. S. 131, Hetsch, Choleraimmunität). Indessen bilden sich in Tierexperimenten bei intravenöser Einverleibung Agglutinine für den einen wie für den anderen Mikroorganismus leicht und in großen Mengen. Die Analogie kann auch weiter gezogen werden: der Baz. X ruft nicht nur Dysenterieerkrankungen hervor, sondern ist auch oft die Ursache von profusen Durchfällen mit flüssigem Stuhl.

Der Baz. X erscheint als ein Zwischenglied, welches so verschiedene Mikroorganismen, wie Dysenteriebazillen und Choleravibrionen, einander nähert.

Als Versuchstiere standen mir weiße Mäuse und Kaninchen zur Verfügung. Bei subkutaner Injektion zeigte sich der Baz. X bei Mäusen wenig pathogen; er rief nur eine Hautnekrose hervor. Die Dosen von mehr als 1 Oese lebender Bakterien waren bei intraperitonealer Ein-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verleibung letal. Intravenöse Injektionen von 1—5 Oesen einer Baz. X-Kultur waren aber für Kaninchen nicht tödlich.

Klinisch wie epidemiologisch ist die im Juli 1917 im Lager Hammerstein entstandene Epidemie von Interesse. Sie griff nicht nur unter den Gefangenen, sondern auch unter der Lagergarnison um sich, wobei sie einen ausgesprochenen Massencharakter trug. Die meisten Kranken kamen mit einem mehr oder weniger starken Durchfall, der nach 1 oder 2 Tagen aufhörte, davon. Nur bei einigen Pat. nahm die Krankheit den Charakter von Dysenterie mit schleimigem oder blutig-schleimigem Stuhl an. Bei allen Erkrankten konnte die bakteriologische Untersuchung im Stuhl den Baz. X oder Y (Hiss-Russel) feststellen. Somit hatte die Epidemie, ungeachtet der Einförmigkeit der Erkrankung, nicht den Charakter einer Einförmigkeit der Aetiologie. Es gelang nicht, auch nur irgendeinen Unterschied in der Erkrankung, die durch Baz. X oder Y hervorgerufen war, aufzufinden. Beide Mikroorganismen waren dem dünnen, wie auch dem blutig-schleimigen Stuhl eigen.

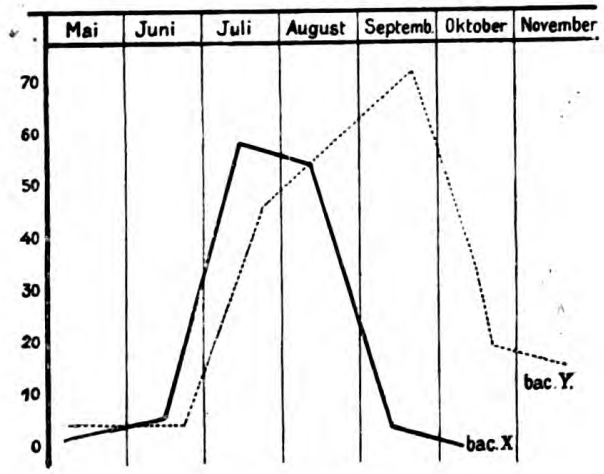


Fig. 1.

Auf Grund der durch die bakteriologische Untersuchung dieses Materials erhaltenen Resultate kann der Gang der Epidemie in Hammerstein durch Baz. X und Y folgendermaßen dargestellt werden:

Wie aus der Kurve zu ersehen ist, begannen die durch den Baz. X hervorgerufenen Durchfälle im Juni und erloschen im September, während die Baz. Y-Dysenterieerkrankungen einen weiteren Monat anhielten. Nach Ablauf der Epidemie tauchten einzelne Fälle von Baz. X-Durchfällen den ganzen Winter hindurch auf.

Aus dem klinischen Krankheitsbilde durch Baz. X kann nur folgendes hervorgehoben werden:

1) Es ist nicht möglich, nach dem klinischen Bilde die durch die Bazillen des Shiga-Kruse-Typus, Flexner und Y hervorgerufenen Erkrankungen von denen durch Baz. X verursachten zu unterscheiden. 2) Die durch Baz. X verursachten Erkrankungen äußern sich in verschiedenartigen Durchfällen. Bei leichten Formen dauert der Durchfall 1 bis zu einigen Tagen. Der Stuhl hat einen breiigen oder dünnen Charakter. Schwerere Fälle werden von profusen, wässerigen Stühlen mit fauligem Geruch begleitet. Schleimige oder blutig-schleimige Durchfälle müssen zu den schweren Fällen gerechnet werden.

Während die vorliegende Arbeit beinahe abgeschlossen war und alle Fälle mit Baz. X im Stuhle mit Einverständnis der Lagerhygieniker Prof. K. Baerthlein in Hammerstein, O. Dietrich und Prof. Scheller, Czersk, als dysenteriepositiv betrachtet wurden, erschien in der München. med. Wochenschr. 1917. Nr. 49 eine Arbeit von Priv.-Doz. K. E. F. Schmitz, in der ein, wahrscheinlich mit unserem iden-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tisches, Stäbchen beschrieben wird. Schmitz schlägt vor, es mit seinem Namen zu benennen, es scheint uns aber, daß der Name „Bacillus paradysenteriae X“ für den gegebenen Mikroorganismus mehr am Platze wäre.

Die von Schmitz gegebene Beschreibung der morphologischen Eigenschaften und der Wachstumsbedingungen auf verschiedenen Böden stimmt mit unseren Beobachtungen überein, im übrigen gehen sie etwas auseinander.

Es fand nämlich Schmitz den neuen Bazillus „nur im Stuhl, der augenscheinlich seinem blutig-schleimigen Aussehen nach pathologisch war“, während ich den Baz. X auch in dünnen, breiigen und sogar normalen Stühlen gefunden habe.

Was die Anwesenheit von Agglutininen im Blute von Kranken anbetrifft, aus deren Stühlen der Baz. X isoliert werden konnte, so drückt sich Schmitz sehr vorsichtig aus. Er sagt, daß „im Krankenblute oft Agglutinine für den Bazillus gefunden werden konnten“. Nach unseren Beobachtungen findet aber überhaupt keine Agglutininbildung im Blute statt. Damit muß gerechnet und die Tatsache braucht nicht gemildert zu werden, da gerade dieses eine merkliche Sonderheit des Baz. X ist. Eine Erklärung dafür ist ebenso schwer, wie bei analogen Erscheinungen bei Cholera.

Das angeführte Material gestattet den Schluß, daß der Baz. X nach seinen morphologischen Eigenschaften, den Wachstumsbedingungen auf Nährböden, nach dem Geruch und nach der von dem Bazillus hervorgerufenen Darmerkrankung zu der Gruppe der Dysenteriebazillen gerechnet werden muß.

Durch die Agglutinationsreaktion wird eine scharfe Grenze zwischen dem Baz. X und anderen bekannten Dysenteriestäbchen gezogen. Deshalb muß der Baz. X nicht als Dysenterie-, sondern als Paradysenteriebazillus bezeichnet werden.

Nachdruck verboten.

Ist die Wallbildung ein charakteristisches Phänomen der Kolonien der Paratyphus B-Bakterien (Typus Schottmüller)?

Von Privatdozent Dr. **Alfred Trawiński.**

In der Literatur finden sich mehrere Angaben über das Phänomen der Wallbildung bei Paratyphus B-Bakterien, das bereits u. a. von Fischer[1]), Jürgens[2]), Kutscher u. Meinicke[3]), R. Müller[4]),

1) Fischer, Untersuchungen über den Unterleibtyphus in Schleswig-Holstein. (Klin. Jahrb. Bd. 15. 1906.)

2) Jürgens, zit. nach Kutscher und Meinicke, Vergleichende Untersuchungen über Paratyphus-, Enteritis- und Mäusetyphusbakterien und ihre immunisatorischen Beziehungen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 52. 1906.)

3) Kutscher und Meinicke, siehe 2).

4) R. Müller, zit. nach Uhlenhuth und Hübener, Infektiöse Darmbakterien

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Drigalski[5]), Felsenreich und Trawiński[6]), Manteufel und Beger[7]), Bitter[8]), W. Gärtner[9]), Olitzki[10]), Zeller[11]) festgestellt wurde. Trotzdem herrscht jedoch keine Uebereinstimmung in der Frage, ob 1) es Paratyphus B-Stämme gibt, deren Kolonien überhaupt keinen Wall entwickeln, und 2) ob auch bei anderen Bakterienarten wallbildende Kolonien beobachtet werden.

Nachdem ich mich seit einer längeren Zeit mit der Morphologie der Bakterienarten der Coli-Typhusgruppe und besonders der Paratyphus B-Gruppe beschäftige und außerdem während des Weltkrieges Gelegenheit hatte, an einem recht umfangreichen Material die Kulturen frisch aus dem Körper gezüchteter Stämme zu studieren, möchte ich meine in dieser Beziehung gewonnenen Erfahrungen unter Berufung auf die mit Felsenreich[6]) veröffentlichte Arbeit in Kürze mitteilen.

Ich muß gleich am Anfange betonen, daß ich die Wallbildung für äußerst charakteristisch für den Paratyphus B (Schottmüller) halte, schließe aber nicht aus, daß auch andere besonders dem Paratyphus B (Schottmüller) näher oder ferner stehende Bakterienarten ein ähnliches Phänomen zeigen können. Es läßt sich jedoch bei entsprechender Technik *) morphologisch eine genaue Feststellung der Paratyphus B-Kolonie durchführen.

Die Paratyphus B (Schottmüller)-Kolonie besitzt nach einem 1-tägigen Wachstum (d. h. nach ca. 16-stünd. Bebrütung bei 37° C und einem weiteren Belassen der Platte bei Zimmertemperatur) die Form einer Kuppe oder eines Kuppenstutzes mit einer kleinen zentralen, trichterförmigen Vertiefung und einem mäßig entwickelten Randsaum. Die Oberfläche ist rauh, die Durchsichtigkeit etwas opak und die Granulierung zeigt, im durchfallenden Licht betrachtet, karierte Anordnung leicht irisierender Granula. Die Andeutung des Walles ist zu dieser Zeit kaum wahrnehmbar. Erst am 2. Beobachtungstage

---

der Paratyphus- und Gärtner-Gruppe einschließlich Immunität. (Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle u. Wassermann.)

5) Drigalski, zit. nach Uhlenhuth und Hübener, siehe 4).

6) Felsenreich und Trawiński, Ueber die Bedeutung des Kolonietypus für die Bestimmung und Differenzierung der Bakterienarten der Coli-Typhusgruppe. (Oesterr. Sanitätswesen. 1916. Nr. 36—40.)

7) Manteufel und Beger, Weitere Untersuchungen zur Paratyphusfrage, insonderheit zur praktischen Brauchbarkeit des Absättigungsverfahrens für die Typentrennung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. 1921. Heft 3.)

8) Bitter, Zur Unterscheidung der Erreger von Enteritis- und Paratyphuserkrankungen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. Heft 6.)

9) W. Gärtner, Kann der Paratyphus B abdominalis in klinischer, pathologisch-anatomischer, epidemiologischer und bakteriologischer Hinsicht von der sogenannten Gastroenteritis paratyphosa B abgetrennt werden? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. 1922. Heft 7/8.)

10) Olitzki, Ueber die kulturelle und serologische Unterscheidung des Bazillus Breslaviensis vom Paratyphus B-Bazillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88, 1922. Heft 6.)

11) Zeller, Differenzierungsversuche in der Paratyphus-Gärtner-Gruppe. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Tiere. Bd. 23. 1922.)

*) Felsenreich und Trawiński, l. c.

Das binokulare Plattenkulturmikroskop (Zeiß) eignet sich für die Betrachtung der Kolonien im ganzen nicht, da es die Feststellung der Granulierung, welche für einzelne Bakterienarten so charakteristisch ist, nicht ermöglicht. Auch die für den Wall der Paratyphus B-Kolonien so charakteristische radiäre Streifung (siehe unten), kann mit dem binokularen Plattenkulturmikroskop nicht wahrgenommen werden. Gerade für diese Zwecke eignet sich am besten die Betrachtung der Kolonie im durchfallenden Licht mittels einer ca. 10fach vergrößernden Lupe.

Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

(d. h. nach weiterem 24-stünd. Belassen der Kultur bei Zimmertemperatur) kommt der Wall schon makroskopisch zum Vorschein; er ist glatt, saftig und glänzend und erhebt sich in der Regel bis zur Hälfte oder $^2/_3$ der Koloniehöhe. Bei 10facher Lupenvergrößerung im durchfallenden Licht stellt er sich als heller, milchig-glasiger, feucht glänzender, radiär fein gestreifter Ring dar. Am 3. Beobachtungstage erhebt sich der Wall über die Randpartien des Kuppenstutzes und legt sich immer mehr über die zentralen Teile der Kolonie, bis er schließlich nach mehreren Tagen (6—8) die ursprüngliche Kolonie völlig überdeckt und derselben auf den ersten Blick das Aussehen eines saftig glänzenden Schleimtropfens gibt.

Der Wall wird nur entwickelt, wenn die mit Paratyphus B-Kultur beschickte Platte wechselnden Temperaturbedingungen ausgesetzt wird, d. h. ca. 16 Std. im Brutofen bei 37° C und sodann bei Zimmertemperatur gehalten wird. Die Feststellung W. Gärtners[9]), daß im Winter, wenn die Zimmertemperatur im Laboratorium nachts zu kalt wird, das Wallbildungsphänomen bei Paratyphus B-Kolonien auch völlig ausbleiben kann, stimmt mit meinen Beobachtungen völlig überein, eine Tatsache, die aber meines Erachtens vielleicht nicht, wie W. Gärtner hervorhebt, durch das geringere Wachstum der Kolonie bedingt wird, sondern vielmehr durch die Hemmung der Schleimbildung der Paratyphus B-Bakterien zu erklären wäre. Es ist auch zu bemerken, daß der Wall nur bei den Paratyphus B-Kolonien gut entwickelt ist, die auf der Platte von den Nachbarkolonien entsprechend entfernt sind. Dagegen tritt eine Störung der Wallbildung ein, wenn, z. B. bei einer Mischkultur, die Paratyphus B-Kolonien zu dicht nebeneinander auf der Platte stehen. Man findet deshalb auch den Wall viel schöner ausgeprägt bei Paratyphus B-Kolonien, die vereinzelt von Stuhlaussaat auf der Platte zwischen verschiedenen Darmbakterien aufgegangen sind, als bei Kolonien einer Paratyphus B-Reinkultur, z. B. bei Blutausstrich nach vorheriger Anreicherung. Im letzten Falle muß dafür Sorge getragen werden, daß der Materialausstrich auf der Platte derart ausgebreitet wird, daß in dem zuletzt bestrichenen Teil der Platte vereinzelte, recht gut isolierte Kolonien sich vorfinden. Befindet sich auf der Platte eine Paratyphus B-Kolonie zu dicht neben einer anderen Kolonie, so wird der Wall nur an der freien, von der Nachbarkolonie abgewandten Randzone gebildet und nimmt eine mondsichelartige Form an, deren stärkste Ausbreitung derjenigen Stelle des Kolonierandes entspricht, welche am weitesten von den störenden Nachbarkolonien entfernt ist.

Das Phänomen der oben beschriebenen Wallbildung ist für Paratyphus B-(Schottmüller-)Kolonien charakteristisch und wurde von mir bei einigen Tausenden frisch aus dem Körper gezüchteter Stämme, und zwar aus dem Blut (nach Anreicherung), Urin und Stuhl von Paratyphuskranken, aus Stuhl und Urin von Paratyphus B-Dauerausscheidern, aus Stuhl von Paratyphus B-Bazillenträgern und in 1 Falle von einer Kuh, die infolge einer Gebärmutterentzündung nach dem Kalben notgeschlachtet worden war, festgestellt und bei fortwährender, recht viele Generationen umfassender Weiterzüchtung der rein isolierten Stämme konstant beobachtet. Die Wallbildung konnte auch stets bei plattenförmigen, rosettenartigen und ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kümmerten Abweichungen der Paratyphus B-Kolonien, welche besonders aus Urin gezüchtet wurden, festgestellt werden. Bei alten Laboratoriumsstämmen kommt die Wallbildung beim 1. Ueberimpfen der Kultur auf die Agarplatte[1]) oft nicht zum Vorschein. Solche Kulturen lassen sich jedoch leicht durch Bouillonpassagen in wallbildende umzüchten, wenn man sie mehrmals in Erlenmeyer-Kölbchen, die nur eine ganz niedrige Bouillonschicht enthalten, einimpft.

Wie schon erwähnt, gibt es auch Bakterienarten der Coli-Typhusgruppe, denen die Fähigkeit der Wallbildung zugesprochen werden muß. Bei solchen Kolonien ist der Wall nur gering entwickelt, erreicht nie eine solche Breite und Höhe wie bei den Paratyphus B-Kolonien und ist von dem letzten besonders durch das Fehlen der charakteristischen radiären Streifung zu unterscheiden. Er weist eine homogene Beschaffenheit auf.

Frisch aus dem Körper gezüchtete Stämme, die wohl kulturell und biologisch mit den Paratyphus B (Schottmüller)-Kolonien übereinstimmten und durch das Paratyphus B-Kaninchenimmunserum mitagglutiniert wurden, jedoch keinen Wall bildeten, haben sich stets nach genauerer Prüfung, besonders auf Grund der Ergebnisse der Kreuzagglutination und des Absättigungsversuches, als keine Paratyphus B (Schottmüller)-Stämme erwiesen. Die meisten konnten der weiteren Paratyphus B-Gruppe eingereiht werden.

Viele solcher Stämme findet man im gesunden Tierkörper und in der Außenwelt; sie täuschen sicher oft den echten Paratyphus B (Schottmüller) vor, dessen Verbreitung in der Außenwelt gar nicht so stark zu sein scheint, wie manche annehmen.

Nachdruck verboten.

Ueber Klärung von Nährbrühe mit Speichel.

[Aus dem Hygienisch-Bakteriologischen Institut der Universität Erlangen.]

Von Dr. **Wilhelm Rother.**

In meiner Arbeit „Ueber den Glykogengehalt von Nährmitteln“ habe ich dargelegt, wie durch Glykogen bedingte Trübungen durch die diastatische Wirkung von Speichel, Pankreatin oder Blutserum beseitigt werden können. Weitere Untersuchungen haben ergeben, daß man mit dem Speichel auch Trübungen in Nährlösungen entfernen kann, die nicht durch Glykogen verursacht sind.

Derartige Trübungen beobachtete ich in Nährlösungen, die mit Hottinger-Verdauungsbrühe aus menschlichen Nachgeburten oder aus ganzen Meerschweinchen bereitet waren. Wiederholte Filtration ergab keine Abnahme der Trübung. Nach Zusatz von Albumen ovi siccum oder Blutserum mit folgender Erhitzung wurde die Trübung stärker und das Filter undurchgängig, nachdem eine kleine Menge der trüben Nährbrühe, ohne sich zu klären, durchgelaufen war, ähnlich wie

1) Es eignet sich am besten die Drigalski-Platte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 13:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bei Nährlösungen, die durch Glykogen getrübt waren. Tierische Stärke konnte jedoch nicht die Ursache sein, da sie beim Hottinger-Verfahren durch Pankreatin abgebaut wird.

Versetzte man die Brühe kalt mit Speichel und kochte kurz, so nahm die vorhandene Trübung zu. Diese Abkochung ging allmählich langsamer durch das Papierfilter, und wurde vollkommen klar, ohne daß späterhin eine Verstopfung des Filters eintrat.

Die klärende Wirkung des Speichels scheint eine mechanische zu sein. Gibt man nachträglich auf ein solches Filter trübe Nährbrühe, der kein Speichel zugesetzt war, so wurde sie ebenfalls klar. Daraus ist auf eine Verkleinerung der Poren durch die entstandenen feinen Flocken zu schließen.

Will man größere Mengen Nährbrühe der erwähnten Art klären, so wird man vielleicht 100 ccm mit Speichel behandeln und wiederholt aufgießen, bis das Filtrat klar wird. Die übrige Menge wird durch dieses Filter ohne weitere Vorbehandlung auch klar filtrieren.

Bei Nährgelatine gelang auf diese Weise eine vollständige Klärung nicht. Sie konnte nur durch Zusatz von Albumen ovi siccum erzielt werden.

Zusammenfassung.

Trübungen in Nährbrühe können, wenn die Klärung mit Eiweiß versagt, durch Zusatz von Speichel beseitigt werden.

Literatur.

Heim, L., Lehrbuch der Bakteriologie. 6. Aufl. 1922. — Rother, W., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 560.

Nachdruck verboten.

Meningitis durch influenzaähnliche Bazillen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Düsseldorfer Akademie für praktische Medizin (Direktor: Prof. Dr. Bürgers).]

Von Dr. med. **Paul Engering.**

Bender berichtet im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. H. 3 über einen Krankheitsfall, der unter dem Bilde der Bronchopneumonie und Meningitis zum Exitus kam. Es gelang ihm, aus dem Lumbal- und Pleurapunktat sowie aus der Milz und Lunge feinste, gramnegative Stäbchen zu züchten, die morphologisch, kulturell und tierpathogen dieselben Eigenschaften hatten, wie der Pfeiffersche Bazillus. Nur durch die Agglutination unterschieden sie sich von ihm. Durch 1 polyvalentes und 2 monovalente Influenza-Kaninchenimmunsera wurden diese Bazillen nicht agglutiniert. Ein Immunserum, das mit dem Meningitisstamm hergestellt war, agglutinierte den eigenen Stamm bis zur Verdünnung 1:800, einen echten Influenzastamm bis zur Verdünnung 1:100 und 3 andere Influenzastämme gar nicht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auch mit dem Cohenschen Bazillus, der 1909 bei 3 Fällen von Meningitis gefunden wurde und die weitgehendste Uebereinstimmung mit dem Pfeifferschen Bazillus zeigte, schien dieser Stamm nicht identisch zu sein. Während der Cohensche Bazillus auch bei Injektion nur kleiner Dosen bei Kaninchen und Meerschweinchen eine langsam verlaufende Septikämie mit gleichzeitiger, eitriger Entzündung der serösen Körperhöhlen hervorrief, gelang es Bender nicht, durch subkutane, intraperitoneale, intravenöse und endolumbale Injektion selbst verhältnismäßig hoher Mengen des aus dem Lumbalpunktat gezüchteten Stammes eine Pathogenität bei Kaninchen, Meerschweinchen und Mäusen festzustellen.

Cohen konnte auch mit dem Immunserum seiner Bazillen keine Agglutination mit dem Pfeifferschen Bazillus erzielen.

Wir hatten in letzter Zeit Gelegenheit, ähnliche Fälle zu beobachten und lassen in Kürze die Beschreibung folgen:

Fall 1: 30. Dez. 1921. 7 Monate altes Kind, vor 14 Tagen nach der Angabe der Mutter Lungenentzündung, seit heute Erbrechen, spielt nicht mehr, weint bei Berührung. Befund: Kopf zurückgebeugt, leicht angezogene Beine. Große Fontanelle vorgewölbt und gespannt; Nackensteifigkeit und Kernig nicht ausgeprägt. Babinski negativ. 2. Jan. 1922. Durch tägliche Lumbalpunktion entleert sich ein trüber Liquor. 6. Jan. 1922. Exitus. Sektion wird verweigert.

Die bakteriologische Untersuchung des Lumbalpunktats ergab im direkten Präparat Leukozyten, zahlreiche gramnegative, feinste Stäbchen, vereinzelt intrazellulär gelagert. Die gewonnene Reinkultur war streng hämoglobinophil und glich morphologisch und kulturell bis aufs kleinste den echten Influenzabazillen. Ein monovalentes Influenza-Kaninchenimmunserum (Breslauer Influenzastamm) agglutinierte den Meningitisstamm nicht.

Der Tierversuch konnte nicht mehr gemacht werden, da der Stamm nach kurzer Zeit einging.

Fall 2: 8 Mon. altes Kind erkrankt mit Husten und Fieber. Aufnahme am 10. Jan. 1922 mit einer typischen, doppelseitigen Bronchopneumonie. Am 10. Febr. zum erstenmal Zeichen eines Meningismus: Nackensteifigkeit, Fontanelle stark gespannt. Durch Lumbalpunktion entleert sich eine stark eitrige Flüssigkeit. 16. Febr. Benommenheit, starke Blickrichtung nach links. Babinski positiv. Exitus.

Sektionsbefund: Dura und Schädeldach hängen so fest zusammen, daß die Herausnahme des Gehirns mit Schädeldecke vorgenommen wird. Auf der Innenseite der Schädeldecke ist die Dura fest verklebt. Die Innenfläche der Dura ist von grauweißlicher Farbe und mit gelblich-eitrigem Belage bedeckt. Der Schädel weist an der Stelle der großen Fontanelle eine 5-markstückgroße, häutige Verdünnung auf. An der Schädelbasis ist die Dura auf der Innenfläche in gleicher Weise wie an der Konvexität des Gehirns beschaffen. Die eitrigen Auflagerungen lassen sich von der Innenfläche der Dura leicht abheben. Die Arachnoidea und Pia haben ein weißgelbliches bis graugelbliches Aussehen und sind trübe. Das Gehirn ist an der Konvexität und Basis mit rahmig-gelbem, teilweise flockigem, teilweise gallertigem Eiter bedeckt. Die Windungen erscheinen abgeplattet, die Furchen leicht verstrichen. Nach Eröffnung der beiden Seitenventrikel fließen ca. 50 ccm einer trüben, weißlich-gelben Flüssigkeit ab. Die Ventrikel erscheinen etwas erweitert. Das Ependym ist getrübt, sulzig, mäßig verdickt und von graugelblichen Eiterflocken bedeckt. In beiden Hinterhörnern finden sich größere Eiteransammlungen. Die oben beschriebene Dura läßt sich nur wenig, zum größten Teil gar nicht von der knöchernen Basis ablösen.

Lungen: Die Oberfläche der linken Lunge ist von kleinen, gelblich-grünen, flockigen Auflagerungen bedeckt, die der rechten Lunge mit einem serösen, sulzig-weißlichen Ueberzug versehen. Auf dem Durchschnitt sehen beide Lungen hell-violettrot aus. Die Schnittfläche ist glatt und feucht. An einzelnen Stellen fühlt man kleinste, knötchenförmige Verdichtungen. Die Lunge fühlt sich im ganzen nicht lufthaltig an.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hilusdrüsen o. B. Die Schleimhaut der Bronchien ist im unteren Abschnitt wenig gerötet und mit geringem, hellrötlichem Schleim bedeckt.

Die bakteriologische Untersuchung des Lumbalpunktats und des Meningealeiters ergab im direkten Präparat zahlreiche Leukozyten und feinste, gramnegative Stäbchen. Die gewonnene Reinkultur war streng hämoglobinophil und blieb es auch während der Beobachtung von 4 bis 5 Monaten, im Gegensatz zum Keuchhustenbazillus und zu dem Bazillus, den Ritchie in 3 Fällen von Meningitis aus dem Lumbalpunktat züchtete.

Unsere Bazillen glichen morphologisch und kulturell vollkommen den echten Influenzabazillen. Kleinere und größere Mengen der Reinkultur wurden einer Maus und einem Meerschweinchen subkutan, sowie einem Kaninchen intravenös eingespritzt. Sämtliche Tiere blieben auch nach mehrmonatiger Beobachtung gesund. Das mit dem Stamm hergestellte Kaninchenimmunserum agglutinierte den eigenen Stamm bis zur Verdünnung 1 : 1600, ein anderer (siehe Fall 3) auch aus einem Lumbalpunktat gezüchteter influenzaähnlicher Stamm wurde bis zur Verdünnung 1 : 100, ein echter Influenzastamm (Breslau) überhaupt nicht agglutiniert.

Fall 3. Der Stamm wurde aus dem Lumbalpunktat eines an Meningitis erkrankten Kindes gezüchtet. Die Krankengeschichte war leider nicht erhältlich.

Die bakteriologische Untersuchung ergab im direkten Präparat zahlzeiche Leukozyten und intra- und extrazellulär gelagerte, feinste, gramnegative Stäbchen. Auch hier war die Reinkultur streng hämoglobinophil und morphologisch und kulturell nicht von den echten Influenzabazillen zu unterscheiden. Der Tierversuch wurde genau so wie beim Fall 2 angesetzt und blieb völlig negativ.

Das mit dem Stamm hergestellte Kaninchenimmunserum agglutinierte den eigenen Stamm bis zur Verdünnung 1 : 1600, der Stamm des Falles 2 wurde bis zur Verdünnung 1 : 100, ein echter Influenzastamm (Breslau) überhaupt nicht agglutiniert.

Nach dem oben Mitgeteilten ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß es influenzaähnliche Bazillen gibt, die klinisch eine typische Meningitis bedingen und doch nicht als echter Pfeiffersscher oder Cohenscher Bazillus bezeichnet werden können. Von dem ersteren unterscheiden sie sich durch die fehlende Agglutination, von dem letzteren durch die fehlende Tierpathogenität.

Die fehlende Agglutination mit dem Pfeifferschen Bazillus haben unsere Stämme mit dem Cohenschen Bazillus gemeinsam. Ob die in Breslau (Bender) und hier gefundenen Bazillen in die von Pfeiffer aufgestellte Gruppe der Pseudoinfluenzabazillen eingereiht werden können, erscheint mir zweifelhaft, da bei allen eine typische Menschenpathogenität (Meningitis) vorlag und bisher nur Pseudoinfluenzabazillen beschrieben worden sind, denen anscheinend nur saprophytäre Eigenschaften zukamen (Pfeiffer, Friedberger, A. Wolff u. a.).

Eine besondere Stellung nehmen im Gegensatz dazu andere Hämoglobinophile ein, die als pathogen bekannt sind (Koch-Week, Bordet).

Unsere Bazillen dürften vorläufig eine gesonderte Stellung beanspruchen, womit nicht gesagt werden soll, daß die Bereicherung unserer Kenntnisse über die Gesamtgruppe der Hämoglobinophilen Tatsachen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aufdecken wird, die eine nähere Verwandtschaft all der oben genannten Bakteriengruppen beweist.

Nachtrag zur Korrektur: Weiterer Fall, inzwischen beobachtet: $2\,^1/_2$-jähriges Kind. Entfernung der Rachenmandel und Tonsillen. Krankenhausaufnahme 10 Tage später. Klinisch alle Symptome der Meningitis. Lumbalpunktat, sulzig, eitrig. Mikroskopischer und kultureller Befund übereinstimmend mit obigen Fällen.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Darmflagellaten aus der Hausente und anderen Wasservögeln.

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. **A. Kotlán,** Tierärztliche Hochschule, Budapest.

Mit 6 Abbildungen im Text.

Die Darmflagellaten unseres Hausgeflügels, insbesondere des Wassergeflügels, sind noch als ziemlich unerforscht zu betrachten. Mehr oder weniger trifft dies nicht nur auf die Flagellaten, sondern, abgesehen von einzelnen Formen (Spirochaeta), überhaupt auf die Protozoenfauna dieser Tiere zu.

So finden wir z. B. bei Neumann (10) für die Hausente an parasitischen Protozoen nur 2 Flagellatenarten und 1 Kokzidienart angeführt. Nicht viel mehr bringen Gedoelst (3), Neveu-Lemaire (11) und Fiebiger (2), also im ganzen nur spärliche Angaben, die sich auf Beobachtungen früherer Forscher (Davaine, Eberth etc.) stützen. Es ist zwar zuzugeben, daß die Darmflagellaten größtenteils (z. B. Trichomonaden) als harmlose Bewohner des Darmtraktus angesehen werden, und dies aller Wahrscheinlichkeit nach mit Recht, wenigstens in dem Sinne, daß sie primär kaum irgendwelche Krankheitserscheinungen hervorrufen. Und so ist es leicht begreiflich, daß bei mikroskopischen Untersuchungen der Fäzes von Haustieren gelegentlich angetroffene Flagellaten nicht näher berücksichtigt wurden. Doch verfügen wir in neuerer Zeit auch über Beobachtungen [Kofoid (6) etc.], die dafür sprechen, daß einzelne Repräsentanten (Giardia) dieser Protozoengruppe, schon infolge ihrer morphologischen und biologischen Eigenschaften, bis zu einem gewissen Grade pathogene Wirkung ausüben können. Ferner wissen wir, daß sie vom Darme aus unter gewissen Verhältnissen [pathologische Veränderungen der Darmschleimhaut, ungenügende Ernährung des Wirtes (Danilewsky)] in andere Organe einwandern und da sich vermehren können. Allerdings ist unser Wissen diesbezüglich noch ziemlich lückenhaft, ganz besonders infolge der unvollkommenen Kenntnis der darmbewohnenden Flagellaten in Vögeln, bei welchen man zu wiederholten Malen diese Parasiten im Blute [Lanfranchi (7), Mortoglio (9), Gonder (4)] und in anderen Organen [Jowett (5), Rátz (13)] angetroffen hat.

Es dürfte deshalb nicht ohne Interesse sein, die im Wassergeflügel lebenden Darmflagellaten bezüglich ihrer Häufigkeit, ihrer ökologischen Verhältnisse, ihrer eventuellen Pathogenität etc. eingehender zu studieren.

Im vergangenen Jahre hatte ich Gelegenheit, mehrere junge Hausenten, die an Darmkokzidiose erkrankten, sowohl im Leben, als auch nach dem Verenden auf Darmflagellaten zu untersuchen. Die hierbei erhobenen Befunde gaben Veranlassung zu weiteren Untersuchungen sowohl bei Hausenten als auch bei anderen Wasservögeln. Die Resul-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tate sollen an dieser Stelle in einer kurzen Mitteilung veröffentlicht werden. Eine eingehendere Beschreibung folgt später an einer anderen Stelle.

Trichomonas Eberthi Mart. u. Rob.

Dieses Flagellat, früher als Trypanosoma, ja sogar als Spirochaeta Eberthi bekannt, wurde von Martin und Robertson (8) in die Gattung Trichomonas gestellt. Abgesehen von den Gattungsmerkmalen (nur 3 Schlaggeißeln und undulierende Membran), ist diese Art hauptsächlich durch die bedeutend schlankere Körperform von den übrigen Vogeltrichomonaden charakterisiert. Ich konnte sie, mit der nächstfolgenden Art vergesellschaftet, allerdings nie so zahlreich wie letztere, in jungen Hausenten antreffen. Ihr Aufenthaltsort ist der Blind- und Enddarm.

Tetratrichomonas anatis n. sp.

Ich glaube, hauptsächlich auf Grund der beträchtlichen Größenunterschiede, diese Form von T. gallinarum Mart. und Rob. abtrennen

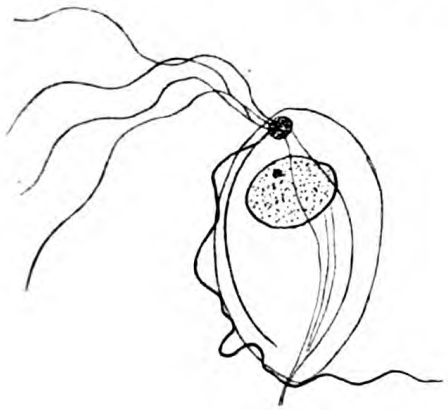


Fig. 1.

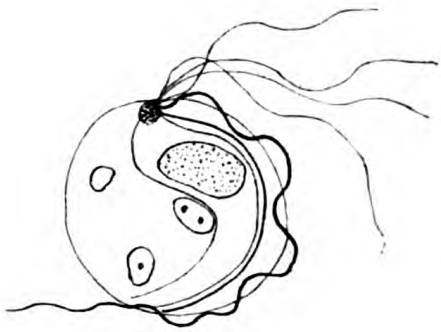


Fig. 2.

Tetratrichomonas anatis n. sp. Vergr. ca. 2000×.

zu müssen. Sie ist von breit rübenförmiger Gestalt und mißt 13—27 μ in der Länge und 8—18 μ in der Breite. Die gewöhnlich nach vorne gerichteten 4 Geißeln sind so lang, wie der Körper selbst. Eine wohlausgebildete undulierende Membran mit langer, breite Windungen bildender Membrangeißel und starkem Basalfaden ist vorhanden. Ein Achsenstab von fibrillärem Bau ist stets nachzuweisen. Zysten nicht beobachtet. Scheint mit T. Prowazeki Al. nahe verwandt zu sein. Mit Rücksicht auf die nicht allzu strenge Spezifizität, die die Trichomonaden als Darmbewohner einzelner Tierarten bekunden, ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß es sich um ein und denselben Parasiten handelt.

Lebt in den hinteren Partien des Darmtraktus von Anas boschas dom. Massenhaftes Auftreten konnte nur gelegentlich katarrhalischer Schleimhautveränderungen des Darmes (Darmkokzidiose, chronische Geflügelcholera etc.) festgestellt werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Trichomastix gallinarum Mart. u. Rob.

Ich möchte diese, mit den bisher angeführten Flagellaten zusammen in Anas boschas dom. angetroffene Form mit der von Martin und Robertson (8) beschriebenen obigen Art identifizieren. Die Tiere sind zwar etwas größer, als die englischen Autoren für die Art angeben; sie messen 8—10 μ in der Länge und ungefähr 3—4 μ in der Breite. Der ziemlich schlanke, rübenförmige Körper trägt 4 Geißeln, von welchen 1 als Schleppgeißel funktioniert. Kein Cytostom, keine undulierende Membran; Achsenstab vorhanden.

Ich habe bisher diese Art nur in einigen Fällen, wenig zahlreich, beobachtet.

Protrichomonas (?) anatis n. sp.

Diese neue Art, die ich nur provisorisch in die von Alexejeff (1) gegründete Gattung stelle, fand ich nur in wenigen Exemplaren in dem Hinterdarm von Anas boschas dom. Sie ist mehr oder weniger rüben- oder birnförmig gebaut und mißt 10—13 μ in der Länge und 4—6 μ in der Breite. Sie besitzt 3 Schlaggeißeln, die aus einem am vorderen Körperende liegenden Blepharoblasten entspringen. Ebenfalls

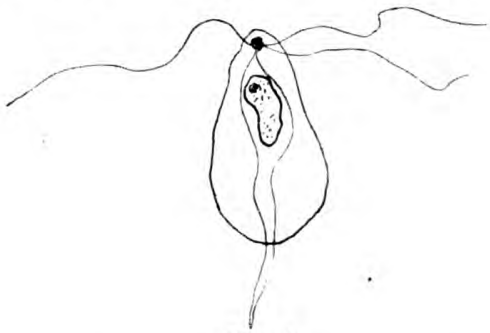


Fig. 3.



Fig. 4.

Protrichomonas anatis n. sp. Vergr. ca. 2000×.

aus diesem ausgehend, ziehen 2 distinkte Fibrillen entlang dem Körper. Im Niveau des Kernes treten sie etwas auseinander, so daß sie den Kern umranden, hinter dem Kern verlaufen sie in einem immer kleiner werdenden Abstande voneinander, bis sie schließlich, den Körper ziemlich überragend, in einer Spitze enden. Der so gebildete Achsenstab zeigt also ausgesprochen fibrillären Charakter. Der Kern von unregelmäßig 3-eckiger Gestalt liegt am Ende der vorderen Körperhälfte. Sonstige Organellen nicht beobachtet.

Cochlosoma anatis n. g. n. sp.

Rübenförmiges Flagellat mit breit abgerundetem Vorder- und zugespitztem Hinterende. Die Länge des Körpers beträgt 10—12 μ, die größte Breite, etwas über dem Kernniveau 6—7 μ. Kleinere Formen, wahrscheinlich junge Tiere, nicht selten; sie messen 5—9 μ in der Länge und 3—6 μ in der Breite. Vorderes Körperende mit einer rundlichen, zur Längsachse etwas schräg liegenden Vertiefung, wodurch eine etwas mehr abgeflachte ventrale und eine gegenüberliegende, abgerundete, dorsale Fläche zu unterscheiden ist. Die rundliche Vertiefung — sie entspricht wahrscheinlich sowohl morphologisch wie in ihrer Funktion

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Lambliensauggrube — hat einen Durchmesser von $^1/_3$—$^1/_2$ der Körperlänge. Sie ist doppelt konturiert, was besonders in E. H.-Präparaten gut zum Ausdruck kommt. Aus einem, an dem vorderen Körperende sitzenden Basalkörper (Centroblepharoblast) entspringen mehrere Geißeln (Fibrillen), die sämtlich nach rückwärts gerichtet sind und von welchen 6 haarbüschelförmig dem Körperrand anliegen. Ihre Länge ist verschieden, jedoch überragen sie meistens ziemlich die Körperspitze; die längste Geißel mißt 20—24 μ. Rundlicher Karyosomkern mit distinkter Kernmembran, ungefähr in der Mitte des Körpers. Wohlausgebildeter Achsenstab mit 2 Fibrillen, die ebenfalls aus dem Basalkörper oder aus einem diesem naheliegenden Korn entspringen. Die Bewegung des Flagellaten hängt zum Teil von der Konsistenz des ihn umgebenden Mediums ab. In flüssiger Substanz besteht die Lokomotion in Drehung um die Längsachse. In einer dichteren Substanz führen die Flagellaten ähnliche Bewegung wie Trichomonaden aus. Vermehrung sowohl im vegetativen Stadium als auch in Zysten beobachtet. In dem vegetativen Stadium geht die Vermehrung durch Längsteilung (Zweiteilung) vor sich. Der Teilungsprozeß folgt zuweilen so rasch nacheinander, daß man Bilder antrifft, wobei die Zweiteilung noch nicht vollkommen beendet ist, als der Kern des einen Individuums ein ziemlich vorgeschrittenes Stadium der Mitose — z. B. Beginn der Telophase — aufweist. Zysten von ovaler Gestalt mit multipler Vermehrung (4 und mehr Kerne) häufig.

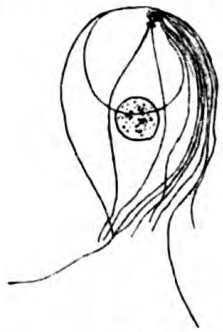


Fig. 5.



Fig. 6.

Cochlosoma anatis n. g. n. sp. Vergr. ca. 2000×.

Dieses Flagellat weist in seinem Aufbau unverkennbar nahe Beziehungen zu Trichomonaden auf. Durch das Vorhandensein eines der Lambliensauggrube ähnlichen Organells, durch die Zahl und Lage der Geißeln, durch die Position des Kernes und schließlich durch Bildung von Zysten, die die rasche Vermehrung der Tiere ermöglichen, ist es genügend charakterisiert, um die Aufstellung einer neuen Gattung zu rechtfertigen.

Cochlosoma wurde zum 1. Male bei an Darmkokzidiose erkrankten jungen Hausenten in den Fäzes sowie Darmschleim angetroffen. Später fand ich das Flagellat auch in erwachsenen Enten in dem Blinddarm. Ferner beherbergten noch Cochlosoma in 2 Fällen Nyroca ferruginea und Fulica atra. In dem 1. Falle waren die Flagellaten in massenhafter Anzahl vorhanden; die Darmschleimhaut war katarrhalisch geschwollen, der Darminhalt mit Blut vermengt. Eine zumindest sekundäre Pathogenität von Cochlosoma kann nicht von der Hand gewiesen werden.

Hexamitus intestinalis (?) Duj.

Auch von dieser Flagellatenform, die auch mit dem Namen Octomitus und Urophagus belegt wird, fanden sich mehrere Exemplare in dem Darmschleim von Anas boschas dom. Auf Grund der uns zurzeit vorliegenden Beschreibungen ist es kaum möglich, die aus Tieren bekannten Formen auseinander zu halten, da die Größe und Gestalt des

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Körpers, die Lage der Achsenstäbe individuell variieren. Die von mir angetroffenen Flagellaten besitzen eine Länge von ungefähr 10—13 μ und eine durchschnittliche Breite von 4—5 μ. Die Gestalt ist demnach zumeist länglich birnförmig, doch finden sich auch mehr abgerundete Formen. Die aus mehreren Basalkörnern entspringenden 8 Geißeln sind zumeist von bedeutender Länge. Der Verlauf der beiden Achsenstäbe ist je nach der Lage und Fixierung des Tieres verschieden. Bald ziehen sie einander parallel bis zum Hinterende des Körpers; bald kreuzen sie sich ungefähr in der Mitte oder auch knapp vor dem Körperende. Die beiden ovalen Kerne liegen an dem vorderen Ende des Körpers. Ein Cytostom ist nicht beobachtet.

Giardia (Lamblia) ardeae Nöller.

Wie ich bereits berichtet habe (diese Zeitschr. Bd. 88. S. 56), konnte ich in dem Darme einiger, aus dem hiesigen Zoologischen Garten stammenden Vogelarten Giardien nachweisen. Auf Grund der Beschreibung von G. ardeae Nöller (12) sind die von mir gefundenen Flagellaten mit dieser Art zu identifizieren. Seit dem letzten Funde konnte ich das Flagellat wiederholt, und zwar in folgenden Vogelarten antreffen: Ardea cinerea (1 Fall), A. rubra (2 Fälle), Nycticorax griseus (1 Fall) und Plegadis falcinellus (1 Fall).

Bei einzelnen (Ardea cynerea, Nycticorax) dieser Vögel wies der Dünndarm stellenweise ziemlich schwere katarrhalische Veränderungen auf, die ich mit Rücksicht auf die an diesen Stellen massenhaft anwesenden Giardien mit diesen in kausalen Zusammenhang bringen möchte. Bei Plegadis waren auch andere Parasiten (Schistocephalus, Echinostomum bilobum) in großer Menge vorhanden, so daß der stellenweise ebenfalls ziemlich ausgeprägte Darmkatarrh möglicherweise nicht nur den Giardien, sondern auch den erwähnten Würmern zuzuschreiben ist. Eine bakterielle Infektion konnte in diesen 3 Fällen nicht festgestellt werden.

Literatur.

1) Alexejeff, A., Sur quelques noms de genres des Flagellés qui doivent disparaître de la nomenclature pour cause de synonymie ou pour toute autre raison. Diagnoses de quelques genres récemment étudiés. (Zool. Anz. Bd. 39. 1912. S. 674.) — 2) Fiebiger, J., Die tierischen Parasiten der Haus- und Nutztiere. 1912. — 3) Gedoelst, L., Synopsis de Parasitologie. 1911. — 4) Gonder, R., Lamblia sanguinis n. sp. (Arch. f. Protistenk. Bd. 21. 1911. S. 209.) — 5) Jowett, Note on the occurrence of flagellated organisms in the liver of the pigeon. (Journ. of compar. Pathol. and Therap. Vol. 20. 1907. p. 2.) — 6) Kofoid, The biological and medical significance of the intestinal flagellates. (2. Pan Americ. Scientif. Congr. 1915/16.) — 7) Lanfranchi, A., Su di un nuovo genere di parassiti del sangue. (Ann. d'Ig. Vol. 27. 1917. p. 697.) — 8) Martin and Robertson, Further observations on the caecal Parasites of Fowls, with some reference to the Rectal fauna of other Vertebrates. Part I. (Quart. Journ. of micr. Sc. Vol. 57. 1911. p. 53.) — 9) Mortoglio, F., Su di un nuovo genere di parassiti del sangue. (Ann. d'Ig. Vol. 27. 1917. p. 561.) — 10) Neumann, L. G., Parasites et maladies parasitaires des oiseaux domestiques. Paris 1909. — 11) Neveu-Lemaire, Parasitologie des animaux domestiques. Paris 1912. — 12) Nöller, W., Kleine Beobachtungen an parasitischen Protozoen. (Arch. f. Protistenk. Bd. 41. 1920. S. 169.) — 13) v. Rátz, St., Trichomonas aus der Leber der Tauben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913. S. 184.)

Generated on 2019-09-16 14:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Die Anatomie des weiblichen Hundeflohes als Beweis für die stammesgeschichtliche Herkunft der Flöhe.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg.]

Von **E. Martini** und **H. Burgarth.**

Auf Grund der Eidonomie der Flöhe hat der eine von uns Bd. 88 S. 205 dieses Centralblattes versucht, den Nachweis einer engen Beziehung der Flöhe zu den staphylinoiden Käfern zu erbringen. Die dort gebrachten Anschauungen fordern auch belangreiche Uebereinstimmungen in der inneren Organisation beider Gruppen. Wir glauben, dieselben im folgenden aufzeigen zu können. Leider war es uns nicht möglich, den Vergleich ganz unseren Wünschen entsprechend auszubauen, da dafür eine sorgfältige vergleichende Untersuchung der Oogenese bei den polyphagen Käfern unentbehrlich gewesen wäre, die der jüngere Autor durchzuführen vorerst durch äußere Verhältnisse verhindert ist. Immerhin glauben wir, daß die Untersuchung auch in der vorliegenden Begrenzung erheblich zur Klärung der Phylogenese der Flöhe beitragen kann. Eine vergleichende Untersuchung der männlichen Geschlechtsorgane sowie der Larven wird zurzeit in der entomologischen Abteilung des Instituts durchgeführt.

Die **Muskulatur** eines Flohes unterscheidet sich natürlich wesentlich von der eines Staphyliniden. Die Flugmuskulatur fehlt, die Beinmuskulatur ist sehr stark entwickelt und im Abdomen sind segmentale Bündel von transversalen Muskelzügen vorhanden, welche wir bei Staphyliniden nicht entdeckt haben. Alle diese Dinge sind aber so offensichtliche Anpassungen an die besondere Lebensweise der Flöhe, daß ihnen eine höhere Bedeutung für das vorliegende Problem nicht zukommt. Ebenso würde es mit den Unterschieden sein, welche eine genaue Untersuchung der Muskulatur der Mundwerkzeuge zweifellos zutage fördern würde. Von einer solchen ist aber, wie überhaupt von einer Untersuchung der Muskulatur, Abstand genommen, da dieselbe erst von so wenigen Arten der Insekten untersucht ist, daß jegliches Urteil über den Wert, welchen Uebereinstimmungen und Verschiedenheiten dieses Organsystems für phylogenetische Schlüsse haben, ausgeschlossen ist.

Beim **Nervensystem** verwertet man vor allem die Zahl der selbständigen Bauchganglienknoten zur Beurteilung der höheren oder tieferen Stellung der Insekten und daher zu Rückschlüssen auf ihren phylogenetischen Zusammenhang. Nun finden wir bei den von uns untersuchten Staphyliniden allerdings nur 6 selbständige Ganglienknoten in der Bauchkette, von denen der letzte dreiteilig ist wie bei Silpha, während bei den Flohweibchen noch 7, bei den Männchen sogar 8 erhalten sind. Hier würde also eine Ableitung von Dipteren günstiger erscheinen, bei deren niederen Formen wenigstens 7 getrennte Abdominalganglien vorhanden sind. Doch gibt es auch Käfer mit

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

7 Paar Hinterleibsnervenknoten, so Elater, Lampyris und Telephorus, und beim ♂ von Dictyopterus sanguineus kommen sogar 8 vor, während das ♀ nur 7 hat, also genau dieselben Verhältnisse wie bei Flöhen. Bei der geringen Anzahl Käfer, deren Nervensystem bisher untersucht ist, läßt sich aus diesen Verhältnissen sicher keine Widerlegung unserer Hypothese ableiten.

Bezüglich der Lage der Ganglien zeigen die Staphyliniden dagegen primitivere Verhältnisse als die Flöhe. Während dieselben bei diesen in den Ringeln 1 und 3 untergebracht sind, das vorderste sogar am Uebergang im Brustkorb liegt, treffen wir sie bei unseren Staphyliniden-Präparaten in den Ringeln 1 und 5 und das erste gehört noch deutlich dem Hinterleib an. Hier ist also die Verschiebung nach vorn beim Floh weiter gediehen als beim Kurzflügler. Dieser verhält sich hierin ursprünglicher als Dytiscus und viele andere Käfer, ist dagegen Dictyopterus und Lampyris gegenüber fortgeschritten. Die Entwicklung, welche die Flöhe genommen haben, ist also eine solche, die im Rahmen der Ordnung Coleoptera offenbar mehrfach unabhängig vor sich gegangen und bei Staphylinoiden bereits eingeleitet ist.

Bei Dipteren sind die thorakalen Ganglien bei niederen Formen durchweg verschmolzen. Denn wenn Deegener die Culiciden unter den Formen mit 3 Th. Ganglien aufführt, ist das nur insofern richtig, als die gemeinsame Ganglienmasse aus Th. 1—3 und A 1 die Grenzen besonders zwischen Th. 1 und 2 durch Lappung deutlich erkennen läßt und sie aus dem Längsschnitt auch aus der Verteilung von Nervenzellen und Fasern deutlich ist. Nur bei Dixa läßt der Schnitt wenigstens noch deutlich als Konnektive anzusprechende Abschnitte erkennen, vor allem zwischen Th. 1 und 2. Selbst bei Familien, in denen, wie bei Sciara und Chironomus, nach Brandts Abbildungen die Ganglien alle drei deutlich getrennt sind, ist der Abstand zwischen Th. 1 und 2 immer wesentlich größer als der zwischen 2 und 3, und es ist immer das 1. Hinterleibsganglion mit dem 3. Brustganglion verschmolzen. Bei den Flöhen ist gerade Th. 2 und 3 und Th. 3 von A 1 gut getrennt. Genau so liegen die Verhältnisse in den uns vorliegenden Staphyliniden-Präparaten. Von einer Zusammensetzung des letzten thorakalen Ganglions aus 2 Abschnitten hintereinander, wie sie für das Weibchen Brandt zeichnet, ist in unseren Flohschnitten so wenig wie in denen durch Staphyliniden zu bemerken.

Die Konnektive sind bei unseren Staphyliniden wie bei den Flöhen deutlich paarig, während sie zum mindesten bei Culiziden zusammen einen einheitlichen kreisrunden Durchschnitt bieten und nach Brandts Bildern bei allen Dipteren verschmolzen sind.

Es reiht sich also das Nervensystem der Flöhe zwanglos unter die von Käfern bekannten Bilder ein, während es sich von dem auch der primitivsten Zweiflügler nicht mehr ableiten läßt.

Von den **Verdauungsorganen** sind die Speicheldrüsen bei den Flöhen 2 große beerenförmige Gebilde, jederseits deren Ausführgänge sich zuerst zu einem gemeinsamen rechten und ebenso linken Gang und dann ganz vorn zu einem medianen Gang vereinigen. Ihre Oeffnung in den Mund wird durch ein Ventil verschlossen. Dieser hochentwickelten Einrichtung gegenüber haben allerdings die von mir untersuchten Staphyliniden nichts aufzuweisen. Wie so vielen Käfern, fehlen ihnen deutlich gesonderte Speicheldrüsen überhaupt, und nur große Zahlen einzelliger Drüsen liegen in der Gegend des Mundes und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zum Teil noch in den Mundwerkzeugen. Dagegen läßt sich ja eine weitgehende Aehnlichkeit mit dem Speichelapparat niederer Dipteren nicht verkennen, wenn auch Unterschiede im Bau der Zellen bestehen. Vor allem sind die Speicheldrüsenzellen der Flöhe riesige Plattenzellen, etwa 12 in jeder Drüse. Man wird aber vielleicht nicht gerade geneigt sein, diese Besonderheit sehr hoch anzuschlagen.

Im Darmkanal selbst liegt die Hauptpharynxpumpe der Flöhe vor dem Gehirn. Die Unterseite besteht aus einer Rinne starken Chitins, die obere Wand ist weichhäutig und an ihr vor allem inserieren die starken Muskeln, welche sie von der unteren Rinne abheben und so die Saugwirkung verursachen. Eine ebensolche Einrichtung findet sich vorm Gehirn der von uns untersuchten Staphyliniden, aber auch in ganz entsprechender Weise bei den Culiciden. Ein Tentorium fehlt den Flöhen, und entsprechend können von ihm auch keine Muskeln zu den Mundwerkzeugen und der vorderen Saugpumpe entspringen. Es ist bei Dipteren und Staphyliniden in recht verschiedener Ausbildung vorhanden. Die Flöhe besitzen ferner hinter dem Gehirn eine zweite, wenn auch sehr schwache Pharynxpumpe. Die Muskulatur derselben entspringt vom Integument des Hinterkopfes, das sich ja nach Art eines Phragma tief zwischen Kopf und Vorderbrust einsenkt. Eine hintere Pharynxpumpe kommt bei Dipteren vor, so bei den Culiciden. Ihre Muskeln entspringen dorsal und ventral vom Integument der Kopfkapsel. Bei den von uns untersuchten Staphyliniden fehlt eine solche hintere Pumpe.

Eine merkwürdige Chitinröhre trägt den Pharynx gleich nach seinem Austritt aus dem Gehirn bei den Flöhen. Eine entsprechende Bildung ist bei Dipteren unbekannt. Dagegen liegt ein ebenfalls als Röhre gebauter Querbalken bei Staphyliniden auch dicht unter dem Schlunde, wo dieser gerade das Gehirn durchsetzt hat, also etwa unter dem Hinterrand des Oberschlundganglions, in dieser Hinsicht also genau an derselben Stelle wie bei den Flöhen. Doch liegt er noch auf dem unteren Schlundganglion. Das ist bei den Flöhen jedoch sehr verkürzt, und so liegt hier die Röhre schon hinter diesem Ganglion unmittelbar dorsal von den Konnektiven zum 1. thorakalen Nervenknoten. Von der Röhre gehen bei Staphyliniden Muskeln nach vorn und hinten. Solche nach vorn gerichteten Muskeln konnten auch beim Floh beobachtet werden.

Weiterhin ist der Vorderdarm der Flöhe ein ganz dünnhäutiges Rohr mit glatter Cuticula, nur hinten schwillt es an zu einem annähernd bocksbeutelförmigen Apparat, Vormagen, der eine deutliche innere Längs- und äußere Ringmuskulatur erkennen läßt und zahllose nach hinten gerichtete gebogene Haare trägt. Diese stehen so dicht, daß ein rotes Blutkörperchen riesenhaft ist gegenüber dem zwischen den Borsten bleibenden engen Spaltraum. Bei der Staphyliniden trägt der ganze Oesophagus nach hinten gerichtete, ganz ähnliche Borsten. Sein Lumen ist fast sternförmig, im Gegensatz zu dem runden der Flöhe. Er wird aber gleichfalls von einer inneren Längs- und äußeren Ringmuskelschicht bedient. Der hintere Teil ist ebenfalls etwas erweitert.

Uns ist kein Zweiflügler bekannt, der eine ähnliche Einrichtung besäße. Bei Käfern dagegen sind solche Kau- oder Vormägen in verschiedenster Ausbildung weit verbreitet. Die Saugmägen dagegen, die den Zweiflüglern ursprünglich allgemein zugekommen sein werden,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fehlen bei Flöhen vollkommen. Der Mitteldarm ist beim Hundefloh ein Sack, etwa wie eine kurze dicke Wurst, einzelne Regionen lassen sich im Epithel kaum unterscheiden. Immerhin scheinen die langen Zylinderzellen im vorderen Teile regelmäßiger gestellt, während man im hinteren deutlich den Eindruck gewinnt, daß Gruppen längerer Zellen zusammenstehen zu zottenartigen Bildungen, innere Ring- und äußere Längsmuskulatur ist vorhanden. Bei den von uns untersuchten Staphyliniden ist der Magen eine lange U-förmige, auf sich zurückgebogene Wurst, deren lange Epithelzellen zu Gruppen zusammenstehen, zwischen denen sich kürzere finden, die den Eindruck von Krypten hervorrufen, wie das ja bei Insekten häufig ist. Der Magen ist mit Blindschläuchen versehen, die eine ziemlich erhebliche Länge haben; er hat äußere Ring- und innere Längsmuskulatur. Bei Dipteren sind ja sackförmige neben schlauchförmigen Mägen nichts Seltenes, und die Differenzierung des Epithels in den einzelnen Teilen kann auch sehr gering sein zwischen den einzelnen Abschnitten, z. B. bei den Culiciden. Deutliche Zottenbildung habe ich bei ihren Imagines nicht gefunden. Im ganzen wird der Habitus des Mitteldarmes naturgemäß zunächst mehr an den der blutsaugenden Dipteren erinnern, im einzelnen aber erinnert der Bau des Epithels und die kräftige in die Züge verschiedener Richtung wohlgeordnete Muskulatur doch viel mehr an die Staphyliniden als an die Zweiflügler.

Der engere dünnwandige Darm zieht bei den Flöhen im Bogen von dem Ende des Mitteldarmes aufwärts zum Hinterende des Tieres, wo er zu einem ampullenförmigen Mastdarm mit Mastdarmdrüsen anschwillt. Bei Staphyliniden zieht er erst, die Richtung des Mitteldarms fortsetzend, nach vorn und biegt dann nach hinten um. Seine Wand ist dünn, aber muskulös. Der Mastdarm ist kaum abgesetzt, der hintere Darmabschnitt aber faltenreich und offenbar sehr erweiterungsfähig. Dagegen konnten Enddarmdrüsen nicht gefunden werden. In dieser Hinsicht stimmt nun der Culicidendarm sehr viel besser mit dem Flohdarm überein, denn er hat ein ampullenförmiges Rectum mit Enddarmdrüsen. Malpighischer Gefäße hat der Floh 4, welche unmittelbar am Ende des Mitteldarmes entspringen. Ebenso die von uns untersuchten Staphyliniden. Die gleiche Zahl kommt auch bei Dipteren vor.

Ein Rückblick auf den Darmtrakt zeigt, daß die Uebereinstimmungen wechselnd fallen, bald mehr zu den Staphyliniden, bald mehr zu den Zweiflüglern. Wenn wir allerdings werten, so scheinen uns die Uebereinstimmungen nach dem ersteren hin die wichtigeren. Zunächst beziehen sie sich auf den Grundplan des Vorhandenseins eines Kaumagens, welcher bei Zweiflüglern fehlt und für dessen sekundäre Bildung gar keine Erklärungsmöglichkeit gegeben ist, da ja die blutsaugenden Dipteren ohne solchen auskommen, dagegen fehlt der Saugmagen, den die niederen blutsaugenden Dipteren durchweg besitzen. Die Ausgestaltung des Saugapparates ähnlich der Zweiflügler ist nicht merkwürdig, da natürlich gegenüber der stopfenden Nahrungsaufnahme der von uns untersuchten Staphyliniden die saugende sehr viel größere Anforderungen stellt. Eher erscheint der Saugapparat der Flöhe verhältnismäßig schwach, verglichen etwa mit den Culiciden. Uebrigens ist die Ausbildung der Pumpen auch innerhalb der Dipteren sehr verschieden, so daß gerade hier Abänderungen offenbar sehr leicht sind. Die Rückbildung der Blindsäcke des Magens und der Krypten sowie

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die starke Verkürzung, welche wir bei Flöhen gegenüber Staphyliniden annehmen müßten, ist selbstverständlich. Diese Vorgänge der Oberflächenverringerung des Darmes infolge schlackenarmer Nahrung dürfte geradezu ein Naturgesetz sein. Man vergleiche Raubtier- und Wiederkäuerdärme, selbst die Fütterung der Tiere (Enten) läßt innerhalb derselben Art in dieser Hinsicht große Unterschiede entstehen. Es scheint also weit eher verwunderlich, daß ein blutsaugendes Insekt noch die Krypten angedeutet hat, die wir bei den sonstigen Blutsaugern vermissen, und daß es eine so starke Muscularis besitzt wie die Flöhe.

Eine Ampulle, welche entweder den ganzen Enddarm umfaßt (Wanzen) oder nur dessen letzten Teil, haben alle blutsaugenden Insekten, und bei mehreren finden sich Enddarmdrüsen, auch in Fällen, die zweifellos phylogenetisch nichts miteinander zu tun haben (z. B. Läuse, Stechmücken). Es erscheint daher nicht ausgeschlossen, daß es sich auch dabei um eine Anpassung an eine besondere Ernährung handelt. Immerhin liegt hier eine beachtliche Uebereinstimmung mit Dipteren und Abweichung von den uns bekannten Verhältnissen bei Käfern vor.

Auch die Speicheldrüse ist zweifellos beachtlich. Doch auch hier kommen Konvergenzbildungen bei blutsaugenden Insekten vor. Z. B. Wanzen und Zweiflügler. Vor allem mag wohl der Ventilapparat für die Auspressung durch lange dünne Kanäle bei den stechenden Insekten sehr vorteilhaft sein. Aber auch die wenigen, im Verhältnis zu den übrigen Zellen des Flohkörpers riesenhafte Elemente, welche diese Drüsen zusammensetzen, sprechen wohl dafür, daß sie aus kleinen, wenigzelligen Organen der Vorfahren hervorgegangen sind, also wohl nichts mit den Dipterenspeicheldrüsen zu tun haben mögen und sehr wohl aus einer Gruppe kleiner Drüsenzellen, wie sie bei den Staphyliniden erwähnt wurden, sich ableiten lassen.

Das **Blutgefäßsystem** bietet in beiden Gruppen keine Besonderheiten. Es besteht bei allen 3 Gruppen aus einem kontraktilen Rückengefäß und in den Kopf reichenden Aorta. Auch auf eine Erörterung des Fettkörpers usw. soll nicht eingegangen werden. Ueber diese Dinge sind die vergleichenden Untersuchungen noch so wenig systematisch durchgeführt, daß selbst bei gefundenen Uebereinstimmungen und Verschiedenheiten die Frage sich nicht lösen läßt, welcher Wert dem zukommt.

Der weibliche **Genitalapparat** der Flöhe ist nun doch etwas anders gebaut, als ihn die Literatur vorführt. Der Hundefloh hat jederseits 6 Ovarialschläuche (nicht 5, wie Landois, Laß und Groß angeben). Jeder derselben geht in einen besonderen Ductus proprius[1]) über und diese Gänge vereinigen sich dann sehr bald zu der rechten und der linken Tube, weiten Trichtern, deren engere Enden sich medioventral vereinigen, so daß hier der Uterus zustandekommt. An denselben schließt sich endlich die Vagina an, welche sich hinter dem VIII. Körperringel öffnet. Anhangsgebilde sind nur die Bursa copulatrix, das Receptaculum seminis und die akzessorische Drüse.

Die Verhältnisse liegen so: Der vordere Teil der Vagina schließt mit einer Platte dickeren Chitins auf der Unterseite nach hinten ab, es folgt eine Einfaltung, und etwa hinter ihr setzt sich die verkehrt S-förmig gebogene Bursa an. Untere kürzere Konvexität nach vorn,

1) Kelck nach Bugnion.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

obere größere nach hinten. In die Tiefe dieser senkt sich von vorn kommend ein Gang ein, der sich etwas weiter kopfwärts gabelt in zwei dünne Gänge. Der eine, alsbald reich mit Drüsenzellen besetzt, ist der Gang der akzessorischen Drüse, der andere führt unter Bildung einer langen Schlinge zum Receptaculum. An diesem läßt sich ein mehr kugelförmiger Kopf unterscheiden, der durch einen weniger dicht chitinisierten, engeren, kurzen Hals mit dem wieder etwas erweiterten und dickwandigeren, wurstförmigen Schwanzstück verbunden ist. Die besondere akzessorische Drüse, welche Laß beschreibt, konnten wir nicht finden. Die von uns untersuchten Staphyliniden haben 6 Ovarien jederseits, die durch kurze Ausführgänge der gemeinsamen Tube anhängen. (Büschelförmige Ovarien.) Diese Ductus proprii und Tubae sind etwas länger gestreckt als beim Floh, sonst aber ganz ebenso gebaut! Die Tuben vereinigen sich zum Uterus, der in die Vagina übergeht. Diese mündet hinter der 8. Hinterleibsbauchschiene. In die Vagina führt von der Rückenseite her die Bursa copulatrix, an der wieder mit gemeinsamem Ausführgang die akzessorische Drüse und das Receptaculum seminis mit seinem besonderen Ausführgang hängen. Der Bau dieser Organe entspricht also ganz genau dem bei den Flöhen. (Vergl. die Abb. bei Stein.) Die schon von Laß beschriebene Muskulatur des Receptaculum seminis erscheint in der Seitenansicht zwischen dem Kopf und dem Schwanz des Receptaculum ausgespannt, wie die Seiten in der Leier. Nur liegen die Muskelfasern in mehrfacher Schicht. Bei Oxytelus beobachten wir ebenfalls an dem kugeligen Hauptteil des Receptaculum einen dickwandigen, langgestreckten, nur einen dünnen Gang umschließenden Anhang, der durch eine weichere Membran (Hals) an dem kugeligen Teil, dem Kopf, befestigt ist, und zwischen Schwanz und Kopf des Organs spannen sich die Muskelbündel in ganz derselben Weise aus wie beim Floh. Irgendetwas dieser Anordnung Aehnliches ist uns jedenfalls bei Zweiflüglern nicht bekannt geworden, dagegen mag sie wohl bei Käfern nicht auf die Staphylinoiden beschränkt sein. Bei Bolitobius unter den Tachyporinae ist im Receptaculum auch die Unterscheidung zwischen Kopf- und Schwanzstück[1]) sehr deutlich. Es herrscht also in der Anatomie der weiblichen Genitalorgane zwischen Staphylinoiden und Flöhen geradezu eine verblüffend weitgehende Uebereinstimmung.

Bei den Zweiflüglern finden sich traubige Ovarien. Es wäre höchst merkwürdig, wenn, von diesen Formen ausgehend, der Floh die Zahl der Eiröhren beschränkt haben sollte, denn Parasiten vermehren im allgemeinen ihre Fruchtbarkeit. Wenn von diesem allgemeinen Satze einige höhere Dipteren scheinbar eine Ausnahme machen, doch nur infolge ihres Lebendiggebärens, wobei die Größe der Larve im Uterus natürlich eine Raumbeschränkung und langsame Folge der Eireifungen mit sich bringt, so daß eine größere Zahl Eiröhren keinen Nutzen mehr bringt. Die Ausführgänge würden sich auch leidlich mit denen der Zweiflügler vergleichen lassen, bei denen aber Receptaculum und Anhangsdrüse, jede mit besonderem Ausführgang, in die Scheide selbst einmündet. Vielfach ist auch eine Bursa copulatrix vorhanden. Letztere ist aber in den uns bekannten Fällen weichhäutig und ihre Lage zu den beiden anderen Anhangsorganen eine von den Verhältnissen bei Flöhen durchaus abweichende. Selbst wenn man die Uebereinstim-

1) Entsprechend also Körper + Schwanz nach Rothschilds Bezeichnungsweise.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mung, 6 Eiröhren bei Flöhen und Staphyliniden, nicht hoch anschlagen will und als zufällig nimmt, erscheint doch der ganze Genitalapparat des weiblichen Flohes dem der Staphyliniden weit ähnlicher als dem der Zweiflügler.

Geringwertung der Sechszahl wäre richtig, wenn man glaubte, die Ableitung von entfernteren Vorfahren der heutigen Käfer vornehmen zu müssen. Wenn aber allgemeine Schlüsse dazu führen, daß die Flöhe eine relativ junge Abzweigung aus einer noch existierenden Familiengruppe sein müssen, dann müßten derartige Uebereinstimmungen sogar erwartet werden.

Die größte Schwierigkeit für unsere Theorie ergeben scheinbar die Ovarien. Man sagt, die Käfer haben entweder polytrophe oder telotrophe Ovarien, dagegen die Flöhe panoistische, und folglich können die Flöhe sich nicht von den Käfern ableiten, denn letztere Bildung ist ursprünglicher. Dann können sie sich aber auch nicht von Dipteren ableiten. Denn polytroph, also bereits höher differenziert, sind die Ovarien nicht nur der Dipteren, sondern auch der Trichopteren, Lepidopteren, Panorpaten, kurz, in dem ganzen Strauß Ordnungen, den man jetzt als Panorpaeformia zusammenfaßt; sie müssen so also schon bei den Vorfahren der Zweiflügler gebaut gewesen sein. Zu einem freundlichen Hinweis von Prof. Handlirsch, daß Laß von den Ovarien der Sciara als holoistisch spricht, läßt sich nur sagen, daß in der Tat in den von uns untersuchten Eierstöcken von Sciara nur große, mit Follikeln umschlossene Eier lagen. Jeder Follikel hat seine bindegewebige Hülle, das Ganze ist ein langes, traubenartiges Gebilde und unserer Meinung so zu deuten, daß von einem sehr langen und eischlauchreichen Ovarium nach Art des Culiciden-Ovariums in jedem Eiröhrchen nur 1 Ei zur Ausbildung kommt und wohl schon bei der frischgeschlüpften Imago annähernd voll ausgewachsen ist. An einem entleerten Ovarium sieht man deutlich, daß jeder Follikel durch einen Kelch mit der Pars ovarica des Eileiters verbunden ist. (NB. Das Wort Eierkelch wird verschieden gebraucht, von Bugnion im Sinne von Eierstiel bei Degener, Demandt u. a., bei letzteren im Sinne des Endteiles des Eileiters Pars ovarica tubae. Hier ist es im ersten Sinne gemeint.) Das beweist, daß die oben gegebene Auffassung die allein berechtigte ist.

Wir stimmen nun der ersteren Ueberlegung aus folgenden Gründen nicht bei:

1) Kein Flohovarium, das wir gesehen, hat mit der Abbildung bei Groß Aehnlichkeit, eher trifft für gewisse Stadien die Abbildung Landois zu. Wenigstens fanden wir in einem jungfräulichen Floh den Inhalt aller Eiröhren deutlich zellig, nur das Epithel machte durchaus einen synzytialen Eindruck. An der Eiröhre ließen sich deutlich mehrere Zonen unterscheiden. In der ersten lagen die Zellen, halbmondförmig oder ähnlich im Längsschnitt erscheinend, mit dichtem, dunklem Protoplasma und großen, ungefähr ebenso dichten Kernen eng beieinander. Strecke I. Diese Strecke ist kaum länger als breit. Dann folgt eine Zone, in der die Kerne viel größer sind, aufgelockert, als ob sie ein Spirem enthielten, neben dem manchmal ein Klumpen stark färbbarer Substanz der Membran anliegt. II. Die Kerne entsprechen hier ziemlich Wills Fig. 2 von Colymbetes. Die Zellen sind hier größer, nehmen jedoch kaum mehr als die halbe Weite der Eiröhre ein. Ihr Protoplasma erscheint meist hell aufgelockert. Die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Spalten zwischen den Zellen sind meist sichtbar, doch viel undeutlicher als in Abschnitt I. In Abschnitt III/IV sind die Kerne wieder dichter, mit einer Anzahl färbbarer Brocken (Eisenhämatoxylin) und dunkel gefärbtem Kernsaft, die Zellen sind anfangs kleiner, unregelmäßiger, alsbald aber groß, ungefähr die ganze Breite der Röhre einnehmend. Das Plasma ist wieder dunkler färbbar. Kernteilungsfiguren sahen wir in oder unmittelbar anschließend an Abschnitt I. Das Epithel liegt in Abschnitt III/IV nicht nur außen, sondern mit einzelnen Kernen auch deutlich zwischen den Eizellen, in Abschnitt I und II greifen diese Zellen von außen tief zwischen die Eier ein und ihre platten Kerne sind schief zur Oberfläche der Röhre gestellt. Der Endfadeninhalt ist von dem des Abschnitt I nicht deutlich geschieden. Einzelne Besonderheiten, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll, lassen schließen, daß auch Degenerationen einzelner Eizellen vorkommen. Große, in die Bildung des Dotters eingetretene Eier sind nicht vorhanden. Die Eiröhre ist zylindrisch, verjüngt sich ganz allmählich gegen den Endfaden hin und nur im Abschnitt I ziemlich rasch. Sie ist also durchaus zellig gegliedert und entspricht daher, um es noch mal zu sagen, abgesehen von der histologischen Differenzierung der einzelnen Abschnitte der Figur von Landois, nicht der von Groß. Im funktionierenden Ovar, in dem einzelne Eier jeder Röhre mehr oder weniger nahe der Ablage stehen, ist der Abschnitt I unverändert, in manchen Fällen aber deutlich vom Endfaden abgegrenzt. Der Abschnitt II zeigt Kerne mit z. T. verklumptem Chromatin und ganz hell körnigem Protoplasma, in dem Zellgrenzen kaum angedeutet sind, das also dem Charakter der protoplasmatischen Räume sehr nahe kommt. Der Abschnitt III ist dann deutlich von IV getrennt und enthält Zellen, die im Habitus denen von I sehr ähnlich sind, dann folgt der Abschnitt IV, in dem die großen polygonalen oder kubischen Zellen zunächst manchmal noch zu 6—8 auf einem Querschnitt, dann noch je 2, endlich schief hintereinander und zum Schluß zur Reihe geordnet liegen und zwischen ihnen Epithelkerne sich finden. Die Endkammer Abschnitt I—III des Ovariums ist, sofern nicht durch Druck verunstaltet, deutlich aufgetrieben und am weitesten in Abschnitt II. Manchmal findet man in II Zellen, welche denen von I gleichen und wie durchwandernde Zellen erscheinen möchten. Die Notwendigkeit dieses Ovar als holoistisch zu deuten, scheint uns nicht vorzuliegen, wenn auch die Möglichkeit vorerst besteht.

2) können wir trotz der Arbeiten von Korschelt und Groß nicht finden, daß die Oogenese der Polyphaga geklärt sei. Die Aufgabe, die sie uns stellt, geht nach dem Verfahren dieser Autoren nicht glatt auf. Es bleibt ein Rest, dessen Lösung uns nicht gelungen scheint. Durch Schlüsse kommt Korschelt zur Ansicht, daß die Nähr- und Keimzellen wohl aus einem gleichartigen, ursprünglich indifferenten Material hervorgegangen sind. Die Keimzellen sollen aber dann abwärts von den Nährzellen im Keimlager liegen, und da ist man nun erstaunt, wie wenig solcher Keimzellen man findet im Verhältnis zu den zahlreichen Nährzellen. Teilen sie sich noch, sind es also noch Oogonien im Keimlager? Dann sollte man etwas häufigere Teilungsfiguren erwarten, und es würde ein prinzipieller Unterschied gegenüber der Keim- und Nährzellenbildung bei den polytrophen Ovarien der Käfer bestehen, wo eben die Schwestern und Basen der Oozyte Nährzellen werden! Wir müssen gestehen, daß wir Verhältnisse bei

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Staphyliniden mit funktionierendem Ovar gesehen haben, die zwar Fortsätze an den Eizellen, aber keine protoplasmatischen Räume, sondern eine durchaus wohlerhaltene Endkammer erkennen ließen, in denen auch besondere Zellen eines Keimlagers nicht sicher kenntlich waren. Die Zellen müßten denn so epithelähnlich aussehen, daß ganz andere Deutungen nahegelegt würden als die Abstammung derselben mit den Nährzellen aus einer undifferenzierten, aber von den Epithelzellen genetisch durchaus getrennten Anlage. Kurz, wir sind der Meinung, daß die Anschauungen von Korschelt und Groß und ihren Vorläufern über Oogenese der polyphagen Käfer wohl richtig sein können, aber noch nicht durch eine völlig befriedigende Aufklärung aller einschlägigen Verhältnisse erwiesen sind. Auch theoretisch können wir Groß nicht zustimmen, wenn er glaubt, die polyphagen Käfer von den adephagen ableiten zu dürfen. Uns scheinen die niederen Polyphagen: wie Staphylinoidea, Canthariden u. a. mehr primitive Merkmale zu bieten als die Adephagen (Flügelgeäder, Ausbildung der Bauchschienen und Hinterhüften, das Nervensystem). Damit gewinnt die Unterschiedlichkeit in der Verwandtschaft von Nähr- und Eizellen erheblich an Gewicht.

Ist nun auch bisher leider keiner von uns in der Lage gewesen, die genauen Untersuchungen der Eibildung primitiver Käfer und von Flöhen unter Vergleich anderer telotropher Ovarien, die uns erforderlich schien, vorzunehmen, so scheint uns doch nach dem, was wir gesehen haben, die Möglichkeit, daß die Flohovarien von solchen polyphager Käfer abgeleitet werden können, gegeben, zumal man bei ihnen mit gesteigerter und beschleunigter Eiproduktion und daher mit modifizierten Verhältnissen rechnen muß.

Zusammenfassend ergibt sich: Die der Anpassung am stärksten unterworfenen Organe, Muskulatur und Verdauungsapparat, zeigen bei den Flöhen erhebliche Abweichungen von den Käfern sowohl wie von den Zweiflüglern. Will man Unterschiede und Aehnlichkeiten dieser Systeme wägen, so wird man wohl eher die schwerer wiegenden Uebereinstimmungen nach den Seiten der Käfer hin finden. In den konservativeren Organsystemen, welche sich also zu Vergleichszwecken eignen, der Nerven und Genitalsystem, treten unüberbrückbare Klüfte gegenüber den Dipteren auf. Aber nicht nur gegenüber diesen. Die polytrophen Ovarien kommen genau so den Trichopteren, Lepidopteren und den Panorpaten zu, mit denen ja die Zweiflügler zur Ordnungsreihe der Panorpaeformia jetzt zusammengefaßt werden. Das beweist schon, daß die Flöhe gar nicht aus derselben Wurzel wie die Zweiflügler stammen können. Aber auch die Planipennia sowie die Hymenopteren und die adephagen Käfer haben polytrophe Ovarien, so daß zum Anschluß den Flöhen nur noch die polyphagen Käfer und die Sialiden unter den holometabolen Insekten übrig bleiben. Auf letztere wird man schon der Lebensweise wegen kaum verfallen, daß zu ersteren Brücken führen, zeigten wir. Im Nervensystem gilt wieder für die ganzen Dipteren, daß die Connective verschmolzen sind, während die Flöhe in den deutlich paarigen Konnektiven ein ursprüngliches

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Merkmal haben. Auch hier ist also ihre Ableitung nicht nur von den höheren Dipteren, sondern auch von den niederen, ja, sogar von ganz primitiven, heute nicht mehr lebenden, unwahrscheinlich. — Während die Uebereinstimmungen mit den staphylinoiden Käfern, bzw. anderen niedern Polyphagen recht große sind.

So unterstützt die Anatomie der Flöhe im Vergleich mit der der staphylinoiden Käfer mit jedem nur wünschenswerten Nachdruck den Schluß, zu dem schon die Eidonomie führte, daß beide Gruppen eng zusammengehören, während zu den Dipteren hin schlechterdings alle Verbindungen fehlen!

Literatur.

Brandt, E., a) Vergleichend-anatomische Untersuchungen des Nervensystems der Käfer, Coleoptera. b) Vergleichend-anatomische Untersuchungen des Nervensystems der Lepidopteren. c) Vergleichend-anatomische Untersuchungen des Nervensystems der Zweiflügler, Diptera. (Horae Soc. Entomol. Rossicae. Vol. 15. 1879. p. 51. 68. 84.) — Groß, J., Untersuchungen über die Histologie des Insektenovariums. (Zool. Jahrb. Anat. Bd. 18. 1903. S. 71.) — Korschelt, E., Ueber die Entstehung und Bedeutung der verschiedenen Elemente des Insektenovariums. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 43. 1886.) — Kraepelin, K., Ueber die systematische Stellung der Puliciden. (Jubiläumsfestschr. d. Johanneums zu Hamburg. 1884.) — Laß, M., Beiträge zur Kenntnis des histologisch-anatomischen Baues des weiblichen Hundeflohes. (Zeitschrift f. wissensch. Zool. Bd. 79. 1905. p. 73.) — Landois, Die Anatomie des Hundeflohes. (1867.) — Leydig, Der Eierstock und die Samentasche der Insekten. (1867.) — Martini, Die Eidonomie der Flöhe als Beweis für ihre stammesgeschichtliche Herkunft. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922.) — Patton and Cragg, Medical Endomology. (Christian Literature Society for India. London, Madras and Calcutta. 1913.) — Stein, F., Anatomie und Physiologie der Insekten. Die weiblichen Geschlechtsorgane der Käfer. Berlin (Duncker & Humblot) 1847. — v. Wielowieyski, H., Weitere Untersuchungen über die Morphologie und Entwicklungsgeschichte des Insektenovariums. (Zool. Arb. a. Wien u. Triest. Bd. 16. 1906. p. 1.) — Ders., Weitere Untersuchungen über die Morphologie und Entwicklungsgeschichte des Insektenovariums. II. Mitteil. (Anz. d. Akad. d. Wissensch. Krakau. 1908. p. 353.) — Will, L., Oogenetische Studien, die Entstehung des Eies von Colymbetes fuscus L. (Zeitschr. f. wisssnsch. Zool. Bd. 43. 1886. p. 329.)

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über Culiciden, nebst Bemerkungen über Tabaniden und Simuliden.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

Von **B. Galli-Valerio.**

1. Culiciden (Ende Oktober 1921 bis Ende Oktober 1922).

a) Beobachtungen in den verschiedenen Jahreszeiten.

Zahlreiche Larven und Puppen von Th. annulata und kleine Larven von A. bifurcatus in Vidy noch am 19. Nov. 1921 (Lufttemperatur + 1°, Wassertemp. + 5°). Die 2 mm langen Larven von A. bifurcatus zeigten, ins Laboratorium gesetzt (18—19°), am 28. Dez. nur 5 mm. Auch bei günstiger Temp. ist die Entwicklung der Culiciden im Winter sehr langsam. Wegen der Trockenheit 1921 waren die meisten Pfützen von Vidy im Winter 1921—22 ganz eingetrocknet, und ich fand nur sehr wenige Larven von Culiciden und von A. bifurcatus sowie viele von Sayomyia. Nur im Juni waren die Pfützen mit Wasser

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gefüllt und die Larven von Culiciden wurden zahlreich. So fand ich z. B. am 27. Juni (Lufttemp. + 19°, Wassertemp. + 22°) zahlreiche Larven und einige Puppen von C. pipiens, C. nemorosus, Th. annulata und A. bifurcatus. Am 10. Juli erschienen viele Larven von A. maculipennis. Im August und September waren speziell zahlreich die Larven und Puppen von C. pipiens und im September die von A. maculipennis. Am 13. Okt. (Lufttemp. + 11°, Wassertemperatur + 9°) fand ich nur sehr zerstreute Larven von C. pipiens, aber sehr zahlreiche Larven und Puppen von Th. annulata. Am 28. Okt. (Lufttemp. + 10°, Wassertemp. + 9°) waren die Larven von C. pipiens verschwunden und ich fand nur eine von A. bifurcatus und zahlreiche Larven und Puppen von Th. annulata.

Die große Trockenheit von 1921 ist wahrscheinlich die Ursache, daß ich in diesem Jahre keine C. ornata und A. nigripes im Wasser von Baumhöhlungen der Wälder von Sauvabelin gefunden habe. Sie scheinen in diesen Wäldern sehr selten geworden zu sein.

Schon Ende September 1922 sind viele Weibchen von C. pipiens und A. bifurcatus ins Zimmer zum Ueberwintern eingetreten. Sie stachen nicht und suchten dunkle Winkel auf, um sich zu verstecken.

b) Beobachtungen über die Brutplätze der Culiciden.

Einen sehr interessanten Brutplatz von A. maculipennis sah ich in Vidy. Im Park Bourget ist ein kleiner See eingerichtet, an dessen Ufern reichlich Elodea canadensis und Hydrodiction reticulatum wachsen. In diesen haben sich sehr viele Larven von A. maculipennis entwickelt. Goldfische, die im See leben, scheinen die Larven nicht zu zerstören.

Ich habe schon bemerkt, daß in Dissentis ein Teich, der sehr viele Forellen enthielt, auch sehr viele Larven von A. maculipennis und A. bifurcatus[1]) aufwies. Es ist wichtig, darauf hinzuweisen, wie leicht sich neue Brutplätze von A. maculipennis auch nördlich der Alpen bilden. In einem Quartier von Lausanne, wo die Leute sehr von vielen C. pipiens belästigt wurden, habe ich Tausende und aber Tausende von Eiern dieser Art in Regentonnen und zementierten Becken der Gärten gefunden. Die Einwohner behaupteten, diese Mücken stammten von viele Kilometer weit entfernten Orten.

c) Beobachtungen über die Biologie und die Verbreitung der Culiciden.

Wegen des kalten Frühlings begannen die Culiciden erst im Mai und Juni zu stechen. Im Juli waren sie in der Rhoneebene eine wahre Plage (speziell C. pipiens). Folgende neue Fundorte von Aëdes gallii habe ich dieses Jahr gefunden: Maniboden (Binnental, Wallis), 2089 m; Schwarzsee (Vispertal) 2500 m, zwischen Randa und Festihütte (Vispertal) 2600 m, Meidenalp (Turtmanntal) 2241 m. Bis jetzt hatte ich diese Art nur bis 2340 m in den Schweizeralpen gefunden[2]). Einige Larven, die ich am 5. Aug. in Grubensee (Turtmanntal, 1600 m) gesammelt habe, haben sich nach 7 Tagen in Puppen verwandelt; diese wurden nach 5—6 Tagen zu Imagines, brauchten also von Larve bis zu den Imagines 12—13 Tage. Die Weibchen dieser Art stachen sehr, und zwar auch an Tagen mit bedecktem Himmel. Sie blieben fixiert, 3—5 Min.

1) Corr.-Bl. f. Schweiz. Aerzte. 1919. Nr. 19.
2) Ebenda.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sehr interessant ist der Brutplatz von Anophelinen in dem Tale von Täsch (Vispertal) in 1460 m, den Dr. Bornand gefunden hat. Die von ihm gefundenen Larven gehörten zu A. maculipennis und A. bifurcatus. Täsch ist bis jetzt der höchste Brutplatz von Anophelinen in der Schweiz. Er zeigt, daß die Anophelinen sich sehr gut dem Leben auf den Hochalpen anpassen können.

d) Bekämpfung der Culiciden.

Wenn auch die Bekämpfung der Culiciden durch Fische gegenüber anderen Methoden zurücksteht, ist es doch nützlich, sie in Gewässern, wo ihre Beseitigung mit anderen Mitteln schwer ist, so z. B. in Gartenbrunnen, Gartenteichen, auf Reisfeldern usw. zu versuchen. Es ist also immer interessant, Fische zu finden, die die Larven und Puppen zerstören und gut in solchen Gewässern leben können. Ich habe dieses Jahr mit Rotaugen (Leuciscus rutilus) Versuche gemacht und bemerkt, daß diese sehr viele Larven und Puppen der Culiciden fressen können, da dieser Fisch sich sehr leicht in kleinen Gewässern eingewöhnt, so z. B. sehr gut in meinem Laboratorium in kleinen Becken.

2. Tabaniden.

Wegen Kälte, starken Schnees und Regens im Frühling und Sommer 1922 waren die Tabaniden auf den Alpenweiden nicht so zahlreich wie 1921. In den ersten Tagen des Juni habe ich auf Alpenweiden des Kt. Waadt nur einige auf Gras gefunden, die aber keine Lust zu stechen hatten. Noch im Juli entwickelten sich T. bovinus, bromius, aterrimus, H. pluvialis und Ch. coecutiens, aber sehr zerstreut. Ich habe sie bis 2001 m gefunden. Niemals, auch nicht bei Experimenten, wurde ich von T. bovinus gestochen. In einem Käfige mit Honig, Kirschen und Stücken von Meerschweinchenleber saugten sie sehr gern Honig und Kirschen, nicht aber an der Leber, und tranken auch sehr oft Wasser. Bei solcher Ernährung lebten sie bis zu 18 Tagen.

3. Simuliden.

Simulium gallii war dieses Jahr zahlreicher als im letzten. Ich habe die Art am Grubensee, 1900 m, Meidenalp, 2241 m, und Illhorn, 2720 m (Turtmannstal) Im Feld 1568 m, und Maniboden 2089 m (Binnental), Tour du Don bei 2001 m (Unterwallis), Pointe de Savoleires (Waadt) 2307 m immer in großen Schwärmen gefunden. Diese Art, die nicht Blut saugt, konnte ich nicht mit Honig und Kirschen ernähren; sie sind immer nach 1—2 Tagen zugrunde gegangen und nur 1 hat 5 Tage gelebt.

Nochmals wurde in diesem Sommer in einem Garten von Lausanne ein Kollege von Simuliden sehr stark gestochen. Die Exemplare, die er auf seinem Körper gefangen hat, wurden von Edwards als S. ornatum Mg. bestimmt. Es scheint demnach sicher, daß diese Art, wie ich schon 1920 bemerkte [1]), Menschen angreift.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 351.

Generated on 2019-09-16 14:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Ueber die Reinigung der Pockenlymphe.

[Aus dem Hygienischen Institut der Amsterdamer Universität (Direktor: Prof. Dr. R. H. Saltet).]

Von Dr. **J. W. Janzen** und **L. K. Wolff.**

Bekanntlich wird bei der Bereitung von Pockenlymphe Glyzerin dem Inhalt der Pockenpusteln zugefügt; E. Müller hat 1870 dies zum ersten Male empfohlen und drei Vorteile dieser Methode angeführt, und zwar 1) die Vermehrung der Lymphquantität, 2) längere Dauer der Wirksamkeit, und 3) geringere Viskosität der Lymphe, da dieselbe leichter abgefüllt werden kann. Später hat sich herausgestellt, daß die Glyzerinlymphe auch weniger fremde Keime enthielt als die ursprüngliche Lymphe (wenigstens nach einigen Monaten), und Leoni hat darauf aufmerksam gemacht, daß man mit dieser 2—4 Mon. alten Glyzerinlymphe viel weniger Komplikationen bekommt (wie Erysipel und Abszesse) als mit frischer Lymphe; die Glyzerinlymphe hat ihre volle Virulenz behalten.

Eine gute Erklärung für die Reinigung der Pockenlymphe durch Glyzerin ist bis heute nicht gegeben worden; Kirchner, Calmette und Guérin haben darauf hingewiesen, daß die desinfizierende Wirkung des Glyzerins sehr gering ist.

Twort hat nun 1917 Versuche beschrieben, welche den Ausgangspunkt für eine mögliche Erklärung der Reinigung der Pockenlymphe bilden. Er fand nämlich, daß, wenn man frische Pockenlymphe auf eine Agarplatte ausstrich, einige der vielen Kolonien vom Staphylococcus aureus eine eigentümliche Form hatten; die Kolonien waren nicht rund, sondern sahen wie angefressen aus. Ueberimpfung dieser sonderbaren Kolonien auf eine neue Platte gab wiederum dieselbe Abnormität. Bordet und Ciuca haben behauptet, daß die angefressenen Kolonien eine Mischkultur darstellen von gewöhnlichen Staphylokokken mit einem Staphylokokkenbakteriophag, da sie in der Pockenlymphe einen solchen Bakteriophag leicht haben auffinden können.

Wir haben uns nun die Frage vorgelegt, ob die oben erwähnte Reinigung der Glyzerinlymphe nicht von einem solchen Bakteriophagen herrühren könne; hat doch d'Herelle schon mitgeteilt, daß der Bakteriophag einen Zusatz von 50-proz. Glyzerin verträgt. Das Glyzerin sollte nur die Weiterentwicklung der Staphylokokken hemmen, die Desinfektion dagegen vom Bakteriophagen bewirkt werden. .

Folgende Versuche unterstützen diese Annahme. Wir haben eine Suspension gemacht von Staphylococcus pyogenes aureus, welcher aus derselben Pockenlymphe stammte, aus welcher wir auch den Bakteriophag isoliert hatten. Diese Suspension, welche ungefähr 1000 Millionen Kokken in 1 ccm enthielt, teilten wir in 2 Teile: A. 5 ccm Suspension mit Zusatz von 3 ccm Glyzerin, und B. dieselbe Mischung, aber mit Zusatz von 1 ccm Bakteriophag. A und B wurden während 1 Mon. bei 8° C gehalten und nachher bei —10° C aufbewahrt (wie dies gewöhnlich mit Pockenlymphe geschieht) und während dieser Zeit öfters auf Staphylokokken untersucht.

Tabelle I.

31. Dez. 1921.	A und B im Eiskasten bei 8° C.		
31. Jan. 1922.	A in Verdünnung 1:100 000 pro Kubikzentimeter	424	Kolonien
	B „ „ „ „ „	30	„
2. Febr. 1922.	A und B im Frigo bei —10° C.		
20. Febr. 1922.	A dieselbe Verdünnung wie oben	314	Kolonien
	B „ „ „ „	14	„
2. März 1922.	A „ „ „ „	169	„
	B „ „ „ „	8	„

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-16 14:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es geht aus obenstehender Tabelle klar hervor, daß Glyzerin ohne Bakterophag viel weniger stark desinfiziert als mit Bakteriophag. Am 2. Febr. war der Bakteriophag noch leicht aufzufinden (in $^1/_{100\,000}$ ccm 1000 Inseln), am 2. März aber war er verschwunden.

Wir haben dann diese Versuche wiederholt, aber jetzt statt 50-proz. 80-proz. Glyzerin zugefügt (also 2 ccm Suspension + 8 ccm Glyzerin), weil in den meisten Lymphanstalten diese Quantität Glyzerin angewendet wird. Auch haben wir sofort nach der Mischung mit dem Bakteriophagen eine Platte gegossen, um zu sehen, ob der Bakteriophag auch darin die Bildung von Kolonien hemmt, was aber nicht der Fall war. Die Versuche mit 80-proz. Glyzerin gaben noch deutlichere Resultate als die vorigen.

Tabelle II.

A = Suspension von Staphylokokken mit 80-proz. Glyzerin, B = dieselbe Suspension, zu welcher auch noch Bakteriophagen zugesetzt waren.

13. März. Beginn des Versuchs wird angestellt. Wir finden in:

A. 9000 Kolonien in $^1/_{1\,000\,000}$ ccm
B. 8000 „ „ $^1/_{1\,000\,000}$ „

Beide Proben im Eisschrank:

27. März. A. 4410 Kolonien in $^1/_{1\,000\,000}$ ccm
B. 170 „ „ $^1/_{1\,000\,000}$ „

Schließlich haben wir dann noch glyzerinierte Pockenlymphe benutzt in 2 Portionen und der einen Portion Bakteriophage zugesetzt.

Tabelle III.

A. ohne, B. mit Bakteriophagzusatz.

2. Jan. beide im Eisschrank bei 8° C.
1. Febr. A. in $^1/_{100\,000}$ ccm 1200 Kolonien
B. „ $^1/_{100\,000}$ „ 420 „
2. Febr. A und B im Frigo bei −10° C.
9. März. A. in $^1/_{100\,000}$ ccm 78 Kolonien
B. „ $^1/_{100\,000}$ „ 34 „

Der Unterschied ist auch hier deutlich, aber geringer als oben, weil natürlich die Pockenlymphe schon an sich Bakteriophagen enthielt. Es scheint uns also sehr wahrscheinlich, daß die Reinigung der Glyzerinlymphe von Staphylokokken in der Hauptsache vom Bakteriophagen verursacht wird. Zusatz von Staphylokokken-Bakteriophagen zur Glyzerinlymphe würde diese Reinigung noch befördern.

Nachdruck verboten.

Die Einwirkung einiger Diuretika auf Bakterien.

[Aus der II. medizinischen Universitätsklinik in Wien (Vorstand: Hofrat Prof. Dr. N. Ortner).]

Von Dr. **Karl Bauer,** Wien.

Gelegentlich von Untersuchungen, die Kollert und Starlinger mit Diureticis anstellten, um deren Verhalten im Reagenzglase zu prüfen, ergab es sich, daß Coffeinum natrio-benzoicum, Urea und einige andere Diuretika, in bestimmten Konzentrationen, d. h. in Mengen, die schon im menschlichen Organismus vorkommen, die Fällung von Fibrinogen hemmen. Ferner gelang es den beiden Autoren, die durch Wärmewirkung oder Kochsalzzusatz entstandene Flockung durch Hinzugabe der oben genannten Medikamente wieder in Lösung überzuführen. Da nun einerseits der Harnstoff eine Substanz ist, die physiologischerweise

Generated on 2019-09-16 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

im Menschen vorkommt, da wir andererseits im Koffein und seinen Salzen eines der wichtigsten Diuretika besitzen, lag es nahe, die Wirkung dieser Substanzen auf Bakterieneiweiß, bzw. auf Bakterien selbst zu untersuchen.

Die Wirkung des Koffeins hat in einer Richtung bereits Roth studiert. Er stellte Versuche mit Trimethyxanthin an, um dessen Einfluß auf die Gruppe der Typhus-Coli-Bazillen zu untersuchen, dabei hauptsächlich von dem Gedanken ausgehend, ein Medikament zu finden, das das Wachstum der reichen Darmflora gegenüber dem Bact. typhi zu hemmen vermag. Er kam hierbei zu dem Schlusse, daß Koffein, in bestimmter Menge und zu gewissen Nährböden hinzugesetzt, die Entwicklung, ja sogar die Lebensfähigkeit des Bact. coli vollständig zu hemmen vermag, während das Bact. typhi gar nicht oder nur gering beeinflußt wird. Es wurde auf Grund dieser Ergebnisse ein Elektivnährboden angegeben, der ungefähr 1,2 g% Koffein, neutralem Agar zugegeben, enthält. Da aber in der jüngeren Literatur dieser Nährboden nicht mehr genannt wird, so scheint man von seiner Verwendung abgekommen zu sein.

Der Harnstoff in der Bakteriologie angewendet, war nur ganz wenige Male Gegenstand von Untersuchungen. Sein relativ hoher Stickstoffgehalt bot Veranlassung zum Studium, ob nicht gerade deshalb die Urea als Stickstoffquelle für Mikroorganismen verwendet werden könnte. Mit diesem Thema befaßte sich 1919 Bruno Kisch, der die Verwendbarkeit verschiedener chemischer Verbindungen als Stickstoffquelle für einige pathogene Bakterien studierte. Bezüglich der Urea verweist er auf die Arbeiten von Capaldi und Proskauer. Diese beiden Autoren fanden, daß das Bact. coli auf Nährböden mit Asparagin, Sukzinamid, Tyrosin, Creatin, Glykokoll und Harnstoff als Stickstoffquelle gut, auf Harnstoff allein nach 24 Std. gar nicht, nach 48 Std. nur ganz schwach gediehen war.

Das morphologische Verhalten der Bakterien auf harnstoffhaltigen Nährböden war Gegenstand eines Aufsatzes von W. James Wilson. Seiner Versuchsanordnung, die von der meinigen in manchen Punkten abweicht, dürfte zuzuschreiben sein, daß er bei der Untersuchung auf Wachstumshemmung andere Ergebnisse erhielt. Der wichtigste Schluß, zu dem Wilson gelangt, ist der, daß er auf harnstoffhaltigen Medien Involutionsformen der Bakterien feststellen konnte.

Diese bereits in der Literatur festgelegten Tatsachen einerseits, dann aber die oben erwähnten Ergebnisse der Arbeiten Kollerts und Starlingers veranlaßten mich in erster Linie, die wachstumshemmenden Eigenschaften von Urea und Koffein genauer zu studieren.

Ich stellte vorerst eine rein orientierende Probe an. Zu einem Bouillonröhrchen wurde etwas Urea, zu einem 2. etwas Coffeinum natriobenzoicum, beides in Substanz, zugegeben; ein 3. blieb ohne jeden medikamentösen Zusatz. Alle 3 wurden nun mit je 1 Oese Stuhl beschickt und in den Brutofen gestellt. Nach 48 Std. wurden die 3 Röhrchen betrachtet; Das 3. (Kontroll-)Röhrchen zeigte reichliche Trübung als Zeichen starken bakteriellen Wachstums; im Urearöhrchen war eine ganz auffallende Wachstumsverminderung zu sehen, die gleiche auch im Koffeinröhrchen. Ich ging nun zur systematischen Untersuchung dieser Erscheinung über:

Als Probeobjekte wählte ich die gebräuchlichsten Bakterienstämme und verwandte 2 verschiedene Stämme von Bact. typhi abdominalis, Bact. paratyphi A, Bact. paratyphi B, Bact. dysenteriae Flexner, Bact. dysenteriae Shiga-Kruse, 3 verschiedene Stämme von Bact. coli commune, ferner Staphylococcus pyogenes aureus I u. II, 2 Streptokokkenstämme und endlich 1 Stamm von Sarcina lutea. Zur Anlage der Kulturen benutzte ich flüssige und feste Nährböden, und zwar Bouillon und Agar, denen ich das betreffende Medikament in Substanz in gewogener Menge zusetzte. Beim Agar pflegte ich es so anzustellen, daß ich die abgewogene Menge der betreffenden Substanz zum festen Nährboden hinzufügte und ihn dann erst im Wasserbade zur Verflüssigung brachte und in Petrischalen goß. In diesem Punkte weiche ich von der Methode Wilsons ab, der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den in destilliertem Wasser gelösten Harnstoff dem bereits geschmolzenen Agar zugab. Die Kulturen wurden nach 24, 48 und 72 Std. sowohl makroskopisch als auch im gefärbten Präparate beobachtet. Außerdem wurden von jeder Platte Ueberimpfungsversuche vorgenommen, um die Wachstumsenergie zu prüfen. Untersucht wurden folgende Medikamente: Urea purissima, Coffeinum purum, Coffeinum natrio-benzoicum, Coffeinum natrio-salicylicum und Theobrominum natrio-salicylicum (Diuretin).

Versuchsprotokoll[1]).

I. Urea purissima. Untersucht wurden B. typhi abdominalis, B. paratyphi A und B, B. coli, B. dysenteriae Flexner und Shiga-Kruse, Streptokokken, Staphylococcus pyogenes aureus I und II, Sarcina lutea. Bei einem Zusatz bis zu 2 Proz. reinen Harnstoffes zeigten alle Platten mit allen Stämmen noch nach 48 Std. ein merklich gehindertes Wachstum im Gegensatz zu den ureafreien Kontrollplatten. In den nächsten 24 Std. nahm das Wachstum noch zu. Die Ueberimpfung gelang.

Bei 3 Proz. Harnstoffzusatz weisen die Platten nur mehr spärliches Wachstum auch noch nach 48 Std. auf, wobei aber die Ueberimpfung nicht mehr gelingt. Nur beim B. paratyphi B finden wir noch mäßig reichliches Wachstum bei noch vorhandener Ueberimpfungsfähigkeit.

Bei 4 Proz. Ureagehalt blieben alle Platten steril, ausgenommen die mit B. paratyphi B besäten. Diese zeigten noch vereinzelte Kolonien; Bouillon von gleichem Harnstoffgehalt war etwas getrübt, die Ueberimpfung gelang nicht mehr.

Erst bei einer Zugabe von 5 Proz. Harnstoff blieben sämtliche Platten steril.

II. Coffeinum purum. Untersucht wurden dieselben Stämme. Auf Medien mit 1 Proz. Coffein gediehen B. typhi abd., paratyphi A, dysenteriae Flexner und Shiga-Kruse gut, wobei auch die Ueberimpfung gelang. Streptokokken, Staphylokokken und Sarcina lutea zeigten sogar sehr reichliches Wachstum bei ebenfalls guter Ueberimpfungsfähigkeit. Nur das B. coli und paratyphi B wiesen ein spärliches Wachstum auf bei verminderter Wachstumsenergie.

Diesem Verhalten entsprechend finden wir bei einem Zusatz von 2 Proz. reinem Koffein nur mehr vereinzelte Kolonien und Involutionsformen bei B. typhi, paratyphi A dysenteriae Flexner und Shiga-Kruse, bei den Streptokokken, Staphylokokken und Sarcina lutea. Ihre Ueberimpfung gelingt nicht mehr. Das B. coli und paratyphi B gedieh nicht mehr.

Erst bei einem Zusatz von 3 Proz. Coffeinum purum gedieh keiner der Stämme mehr.

III. Coffeinum natrio-benzoicum. Die Nährböden mit 0,3 Proz. zeigten mit allen Stämmen ziemlich üppiges Wachstum. Bei einem Gehalt von 1,6 Proz. Coff. natr.-benz. finden wir ganz vereinzelte überimpfbare Kolonien von B. dysent. Flexner und Shiga-Kruse, ziemlich gutes Wachstum bei den Streptokokken und Staphylokokken und Sarcina lutea. Das B. typhi, paratyphi A und B, und das B. coli gedieh nicht mehr. Bei 3,8 Proz. Koffeingehalt sehen wir nur mehr ganz kleine, nicht überimpfbare Kolonien von Streptokokken, Staphylokokken und Sarcina lutea, alle anderen Stämme stellten ihr Wachstum ein.

IV. Coffeinum natrio-salicylicum. Bei einem Gehalt von 1 Proz. finden wir reichliches Wachstum mit guter Wachstumsenergie nur beim B. paratyphi B, ein ziemlich reichliches zeigen die Streptokokken, Staphylokokken und Sarcina lutea, ein mäßig reichliches das B. coli, dysent. Flexner und Shiga-Kruse. Steril blieben Platten mit B. typhi und B. paratyphi A. Bei einem Zusatz von 2 Proz. sehen wir bei allen Stämmen, ausgenommen jene, die schon bei 1 Proz. steril blieben, ein mäßig reichliches Wachstum, aber immerhin mit noch positiver Wachstumsenergie. Diese verlieren sie erst auf Nährböden, die 3 Proz. Coff. natrio-benz. enthalten. Der Zusatz von 4 Proz. hemmt jedes Wachstum.

V. Theobrominum natrio-salicylicum. Bis zu einem Zusatz von 3 Proz. zeigen die Streptokokken, Staphylokokken und Sarcina lutea gutes Wachstum, alle übrigen Stämme spärliches Wachstum mit vorhandener Wachstumsenergie. Bei einer Zugabe von 4 Proz. Theobrominum natrio-benz. gediehen B. typhi, paratyphi A, coli, dysent. Flexner und Shiga-Kruse nicht mehr, die Streptokokken, Staphylokokken und Sarcine mäßig reichlich; das B. paratyphi B sehr spärlich (nicht überimpfbar). Bei 5 Proz. Diuretingehalt gediehen die Stämme nicht mehr.

Wenn wir nun zuerst die Tabelle betrachten, die uns das Ergebnis auf harnstoffhaltigen Nährböden zeigt, sehen wir schon bei einem Urea-

1) Von der Wiedergabe der Versuche in der übersichtlicheren Tabellenform mußte wegen Raummangels Abstand genommen werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zusatz bis zu 2 Proz. eine merkliche Beeinträchtigung des Bazillenwachstums; während auf der Kontrollplatte, d. h. auf dem Agar ohne Harnstoffzusatz üppige Bakterienrasen schon nach 20—24 Std. aufgingen, sehen wir auf dem Harnstoffagar nur spärliche Kolonien und die erst nach 48 Std. Noch mehr tritt die hemmende Wirkung bei einem Zusatz von 3 Proz. zutage. Eine Ausnahme macht nur das Bact. paratyphi B, das seine, im Verhältnis zu den übrigen Mitgliedern der Typhus-Coli-Gruppe erhöhte Resistenz auch hier beibehielt und noch auf Nährböden bis zu 4 Proz. Ureagehalt gedieh, wenn auch in stark vermindertem Maße. Diese Eigenschaft der erhöhten Resistenz des Bact. paratyphi B gegen chemische Einflüsse sehen wir auch bei einigen Koffeinpräparaten. Vermehrte man jedoch den Harnstoffgehalt bis zu 5 Proz., so blieben sämtliche Platten steril, auch mit den verschiedensten Stämmen. In diesem Punkte stimme ich nicht mit Wilson überein, insofern, als er erst bei einem Zusatze von 8 Proz. Urea kein Wachstum mehr beobachten konnte. Ich glaube wohl, daß daran, wie gesagt, die Art des Zusatzes die Schuld trägt.

Bei den Koffeinpräparaten sehen wir, daß am stärksten das Coffeinum purum das Bakterienwachstum hemmt; denn ein Zusatz von 3 Proz. genügt, um sämtliche Platten mit den verschiedensten Stämmen steril zu halten. Beim Bact. coli comm. wird das Wachstum sogar schon durch 2 Proz. reinen Koffeins aufgehoben. Das Coffeinum natrio-benzoicum und natrio-salicylicum sind in ihrem Verhalten den Bakterien gegenüber ziemlich ähnlich. Die Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe geben ihre Wachstumsfähigkeit bereits bei einem Zusatz von 1—3 Proz. auf; am meisten widerstandsfähig sind die Kokken, die erst auf Nährböden mit einem höheren Koffeingehalt als 3 Proz. nicht mehr gedeihen. Bei den Koffeinpräparaten müssen wir noch in Betracht ziehen, daß im Coffeinum natrio-benzoicum 47,7 Proz. Coffein (Ph. A. VII), im Coffeinum natrio-salicylicum 45,45 Proz. Koffein (Ph. G. IV) enthalten sind. Diese Zahlen würden den Befund bestätigen, daß das reine Koffein viel wachstumshemmender wirkt als die beiden Doppelsalze. Die Löslichkeitskoeffizienten verhalten sich jedoch umgekehrt; beim Coffeinum purum beträgt er 1 : 80, während er bei den Koffeinsalzen 1 : 2 ist. Nichtsdestoweniger löste sich das reine Koffein im schmelzenden Agar glatt auf.

Dem Harnstoff am ähnlichsten wirkt das Theobrominum natrio-salicylicum. Wir sehen bis zu 3 Proz. ein spärliches Wachstum der Typhus-Coli-Gruppe, ein gutes bei den Kokken; bei 4 Proz. können wir bei den ersteren kein Fortkommen beobachten und auch bei den Kokken nur ein merklich eingeschränktes. Der Zusatz von 5 Proz. hindert es völlig bei allen Stämmen.

Sehr wichtig in der Beurteilung der Wachstumsenergie war die Ueberimpfung der auf Harnstoff bzw. Koffein oder theobrominhaltigen Nährböden gediehenen Kolonien auf normale Nährmedien. Es konnte da die Beobachtung gemacht werden, daß Kolonien, die auf Nährböden mit bis zu 2 Proz. Ureazusatz gewachsen waren, auf gewöhnlichem Agar oder Bouillon sehr gut fortkamen, obgleich man auf den Harnstoffnährböden ein bedeutend verringertes Wachstum hatte feststellen können. Erst bei einem Ureagehalt von 3 Proz. gelingt die Ueberimpfung nicht mehr. Beim Bact. paratyphi B sind die Verhältnisse etwas verschoben, indem dort noch bei 3 Proz. Urea die Ueberimpfung möglich ist und erst bei 4 Proz. sistiert.

Bei den Koffeinpräparaten können wir wieder eine Trennung zwi-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schen den Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe einerseits und den Kokken, das sind die Streptokokken, der Staphylococcus pyogenes aureus und die Sarcina lutea, feststellen. Die Typhus-Coli-Gruppe zeigt die Ueberimpfbarkeit, also die Wachstumsenergie, beim Coffeinum purum bis zu 1 Proz., beim Coffeinum natrio-benzoicum bis zu 1,6 Proz., und endlich beim Coffeinum natrio-salicylicum bis zu 1 Proz. Die Kokken sind resistenter und zeigen bei Coffeinum natrio-benzoicum noch bis zu 3,3 Proz. und bei Coffeinum natrio-salicylicum bis zu 2 Proz. Fortkommen nach Ueberimpfung. Bei reinem Koffein sind die beiden Gruppen ziemlich gleichgestellt. Das Diuretin erhält der Typhus-Coli-Gruppe und den Kokken noch bei 3 Proz. Ueberimpfungsmöglichkeit.

Hand in Hand mit der Abnahme der Wachstumsenergie geht die morphologische Beschaffenheit der Kolonien und besonders der einzelnen Individuen. Die Kolonien wurden mit freien Augen und mit Lupenvergrößerung betrachtet; ferner wurden Ausstriche angefertigt, die dann gefärbt mikroskopisch untersucht wurden.

Abgesehen davon, daß die Kolonien auf Nährböden mit einem höheren Zusatz von Urea, Koffein oder Theobromin sehr spärlich und klein waren, konnte nichts Wesentliches festgestellt werden. Formabweichungen, wie sie bei dem d'Herelleschen Phänomen beschrieben werden, waren nicht zu finden. Interessanter gestaltete sich dagegen das mikroskopische Bild. Dieses bot ein entschieden anderes Aussehen als das normale Bild des gut erhaltenen Bazillenleibes auf dem Kontrollnährboden. Die Bakterien, die auf einem der Nährböden gediehen waren, denen Urea, Koffein oder Diuretin zugesetzt war, hatten die ausgesprochensten Involutionsformen. Sie besaßen eine herabgesetzte Färbbarkeit in dem Sinne, daß sie nicht gleichmäßig die Farbe annahmen; die Bazillen wie die Kokken verloren ihre gleiche Gestalt, wir sahen bald große bald kleine Individuen in derselben Kolonie. Sehr oft fanden sich Gebilde, die leere, scharf konturierte Zellen darstellten und die Kruse als „Schatten" beschreibt und charakteristisch für absterbende Kulturen fand. Diese Erscheinungen nehmen alle stufenweise zu, sind somit am stärksten ausgeprägt in jenen Nährböden, denen der höchst zulässige Gehalt an den oben genannten Medikamenten zugefügt ist, bevor noch vollkommene Wachstumshemmung eintritt. Wenn wir nun das oben beschriebene Auftreten echter Degenerationsformen mit der verminderten Wachstumsenergie zusammenfassen, kommen wir zu dem Schlusse, daß es sich um Plasmolyse handeln dürfte. Insbesondere spricht hierfür das Vorkommen der Kruseschen „Schatten". Mit dem Phänomen der Plasmolyse können wir dann auch erklären, wieso ein höherer Zusatz der untersuchten Diuretika das Wachstum der Bakterien vollständig zu hemmen vermag.

Außer den Kulturen auf gewöhnlichem Agar wurden noch andere Kontrollen angelegt. Die 1. bestand darin, daß den Nährböden Kochsalz in der Höchstkonzentration wie die geprüften Diuretika zugesetzt wurde. Es wurden daher sämtliche Stämme auf Agar mit 5 Proz. NaCl überimpft; schon nach 20 Std. bestand überall reichliches Wachstum.

Eine 2. Probe bestand darin, eine eventuelle Komponente auszuschalten, die in der Alkaleszenz der Urea bzw. des Koffeins oder Theobromins lag. Zu diesem Zwecke wurde die potentielle Alkaleszenz berechnet. Für die Urea gestaltete es sich folgendermaßen: 1 g Urea wird in destill. Wasser gelöst und gegen Methylrot titriert; um den Farbenumschlag genauer bestimmen zu können, werden der Titration 5 ccm

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

n/70 NaOH und 5 ccm n/70 HCl vorgelegt. Bis zum Farbenumschlag wurden 4,0 ccm n/70 HCl benötigt. Da nun 1 ccm n/70 NaOH 0,57 mg NaOH enthält, so entsprechen 1 g Urea 2,28 mg NaOH oder, mit anderen Worten, die potentielle Alkaleszenz von Harnstoff beträgt 2,28. In gleicher Weise wurde die Alkaleszenz der anderen Diuretika berechnet. Es ergaben sich daher folgende Werte: für Coffeinum purum 1,282, für Coffeinum natrio-benzoicum 0,57, für Coffeinum natrio-salicylicum 0,342 und für Theobrominum natrio-salicylicum 0,435. Hierauf wurde ein Agar hergestellt, der dieser Alkaleszenz über den Neutralpunkt entsprach; auch darauf gediehen die verschiedensten Stämme recht gut. Das ist auch nicht verwunderlich, da nach obiger Berechnung die Alkaleszenz dieser Diuretika ziemlich gering ist; wird doch den meisten Nährböden ein Alkalizusatz in Form von 10—15 ccm n/1 Sodalösung pro Liter gegeben, was einem Gehalte von ungefähr 5,30 mg-Proz. Na_2CO_3 entspräche. Manche Bakterien vertragen sogar noch höhere Alkaleszenzen.

Ferner wurden Agarplatten angelegt, denen Natrium benzoicum und Natrium salicylicum in entsprechender Menge zugefügt worden wer. Auch darauf gediehen die Kulturen gut.

In einem Aufsatze über „Serodiagnose und Blutchemismus", den Karl Lange in der „Klin. Wochenschr." vor kurzem veröffentlichte, macht der Autor die Bemerkung, daß wir im Harnstoff ein „exquisit lyotropes Mittel besäßen, das sämtliche Bazillen inklusive der Tuberkelbazillen ohne Aufhebung des Antigencharakters auflöse."

Ich konnte nun nach meiner Versuchsanordnung zu diesem Ergebnisse nicht gelangen. Nachdem ich, wie ich oben dargelegt, gefunden hatte, daß das Bakterienwachstum auf Nährböden, denen eine bestimmte Menge von Urea, Koffein oder Theobromin zugesetzt war, gehemmt wird, versuchte ich, die Wirkung dieser Substanzen auf vollentwickelte Kulturen zu beobachten. Die Ergebnisse Kollerts und Starlingers, insbesondere aber die Diskussionsbemerkung Eppingers, der, gestützt auf die Arbeit Limburgs, behauptete, daß Harnstoff alles löse, ließen mich erwarten, daß die Bakterien aufgelöst, bzw. die trüben Kulturen oder Aufschwemmungen klar werden würden. Zu diesem Zwecke nahm ich 24 Std. alte Bouillonkulturen und fügte ihnen von den in Frage kommenden Substanzen stufenweise steigend bis zu 10 Proz. hinzu; gleichzeitig stellte ich mir auch Bakterienaufschwemmungen in physiol. Kochsalzlösung wie in destill. Wasser dar und fügte ihnen die gleiche Menge der Substanz bei. Ich beobachtete nun diese Kulturen bzw. Aufschwemmungen sowohl stündlich durch 8 Std. als auch nach 24 und 48 Std., wobei ich mit freiem Auge keine Aufhellung der Trübung sehen konnte, was ja ein Zeichen der aufgelösten Bakterien gewesen wäre. Aber auch mikroskopisch war keine Veränderung weder im hängenden Tropfen noch im gefärbten Präparate zu finden. Ich versuchte dann auch Kulturen anzulegen, die mir aber nur gelangen, wenn die Entnahme aus den mit den betreffenden Medikamenten versehenen Röhrchen innerhalb der 1. Std. erfolgte. Wirkten die Substanzen längere Zeit ein, so waren die Bakterien wohl noch morphologisch erhalten, hatten aber ihre Wachstumsenergie eingebüßt. Dieser Befund stimmte ja auch im allgemeinen mit den oben mitgeteilten Versuchen auf der Agarplatte überein. Auf die Beweglichkeit der Bakterien übte weder Urea noch Koffein oder Theobromin einen Einfluß aus. Die Versuche hierzu wurden im hängenden Tropfen angestellt, dem von den in Untersuchung stehenden Medikamenten kleine Mengen in Substanz zugesetzt wurden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

oder es wurde der Tropfen aus der schon vorbehandelten Bouillon oder Aufschwemmung entnommen.

Was nun das Verhalten der Tuberkelbazillen betrifft, wurde folgender Versuch ausgeführt: Ein bazillenreiches Sputum wurde mit Antiformin behandelt und in einem mikroskopischen Präparate hergestellt, um sich vom Vorhandensein der Bazillen zu überzeugen. Hierauf wurde die restliche Menge so lange gewaschen, bis die alkalische Reaktion vollständig geschwunden war. Hernach wurde das nun so behandelte Sputum in Röhrchen abgefüllt und in steigender Menge bis zu 10 Proz. mit Urea versetzt; die Röhrchen wurden anfänglich stundenweise, später in größeren Zeitabschnitten bis zu 4 Tagen beobachtet. Eine Auflösung der Tuberkelbazillen konnte hierbei nicht gesehen werden, vielmehr wiesen die gefärbten Präparate keinerlei Unterschied gegenüber den nicht mit Urea behandelten auf. Einen Züchtungsversuch stellte ich nicht an. Die gleichen Versuche wurden mit den Koffein- und Theobrominpräparaten angestellt und es ergaben sich die gleichen Resultate. Es erscheint mir in diesem Falle auch als wenig wahrscheinlich, daß die starke Wachshülle der Tuberkelbazillen, die sogar dem chlorhaltigen Antiformin trotzt, durch die in Frage kommenden Diuretika aufgelöst werden könnten.

Zusammenfassend komme ich also nach meinen bisherigen Versuchen zu dem Schlusse, daß durch Zusatz von Harnstoff, Coffeinum natrio-salicylicum, Coffeinum natrio-benzoicum und Theobrominum natrio-salicylicum zu neutralem Agar in bestimmten Mengen das Wachstum vieler Bakterien stark gehemmt bzw. aufgehoben wird.

Werden diese Substanzen aber zu vollentwickelten Kulturen oder Bakterienaufschwemmungen hinzugefügt, so werden die Bakterien nicht aufgelöst, wiewohl sie nach längerer Zeit ihre Lebensfähigkeit einbüßen.

Literatur.

Kollert, V., u. Starlinger, W., Wien. klin. Wochenschr. 1922. Nr. 9., Nr. 19. — Roth, Arch. f. Hyg. Bd. 42. — Kisch, Bruno, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919. H. 1. — Capaldi u. Proskauer, zit. nach Kisch. — Wilson, W. J., Journ. of Path. and Bact. Vol. 11. 1906. — Kolle u. Wassermann, Handb. d. path. Mikroorg. — Eppinger, Diskussionsbemerkung s. Protokoll d. Sitzung d. Ges. f. inn. Med. vom 9. Febr. 1922. — Lange, C., Klin. Wochenschr. 1922. S. 21/22. — Limburg, Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 19. 1889. S. 450.

Inhalt.

Bauer, Karl, Die Einwirkung einiger Diuretika auf Bakterien, S. 42.
Engering, Paul, Meningitis durch influenzaähnliche Bazillen, S. 21.
Galli-Valerio, B., Beobachtungen über Culiciden, nebst Bemerkungen über Tabaniden und Simuliden, S. 38.
Janzen, J. W., u. **Wolff, L. K.**, Ueber den Typhusbakteriophag, S. 6.
— — Ueber die Reinigung der Pockenlymphe, S. 41.
Kiefer, K. H., Ein Beitrag zur Lebensfähigkeit der Bakterien, S. 1.
Kotlán, A., Zur Kenntnis der Darmflagellaten aus der Hausente und anderen Wasservögeln. Vorläufige Mitteilung. Mit 6 Abbildungen im Text, S. 24.
Martini, E., u. **Burgarth, H.**, Die Anatomie des weiblichen Hundeflohes als Beweis für die stammesgeschichtliche Herkunft der Flöhe, S. 29.
Rother, Wilhelm, Ueber Klärung von Nährbrühe mit Speichel, S. 20.
Stutzer, M. J., Eine neue Art des Paradysenteriestäbchens. Mit 1 Abbildung im Text, S. 12.
Trawiński, Alfred, Ist die Wallbildung ein charakteristisches Phänomen der Kolonien der Paratyphus B-Bakterien (Typus Schottmüller)?, S. 17.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 90. Heft 2.

Ausgegeben am 12. März 1923.

Nachdruck verboten.

Eine Methode zur quantitativen Bestimmung der Atmung von Mikroorganismen und Zellen.

[Aus der Bakteriologisch-serologischen Abteilung der Höchster Farbwerke.]

Von **R. Bieling.**

Die Bakterien entnehmen den zum Leben notwendigen Sauerstoff teils der atmosphärischen Luft, teils machen sie ihn aus hochmolekularen Verbindungen ihrer Nährböden frei. Dabei wechselt das Verhältnis der aus beiden Quellen geschöpften Sauerstoffmengen von Art zu Art, und zwar so stark, daß bei einigen Arten der eine Faktor gleich Null werden kann. Auf der einen Seite stehen Bakterien, wie z. B. der Choleravibrio, welche besonders die Oberfläche ihrer Nährmedien aufsuchen, weil sie den dort absorbierten Sauerstoff bevorzugen. Andererseits gedeihen die strikten Anaërobier nur bei völligem Abschluß der Luft. Sie spalten den gesamten, zur Atmung notwendigen Sauerstoff aus den von ihnen zerlegten Verbindungen des Nährbodens. Aehnliche Unterschiede bestehen übrigens auch für die Protozoen sowie für die Gewebszellen und auch für ganze Metazoen (Endoparasiten).

Entfernt man jedoch aus dem Nährboden diejenigen chemischen Substanzen, welche die Mikroorganismen unter Herausnahme des Sauerstoffs aufspalten können, so werden die betreffenden Keime auf den Luftsauerstoff für ihre Atmung allein angewiesen sein (H. Braun u. Cahn-Bronner). Zwischen den beiden Extremen, den ausschließlichen Aërobiern und den obligaten Anaërobiern, steht die Mehrzahl der Bakterien, welche sowohl Luftsauerstoff wie chemisch gebundenen Sauerstoff veratmen können.

Die im folgenden beschriebene kolorimetrische Methode läßt den Verbrauch des Luftsauerstoffs unberücksichtigt und beschränkt sich auf die Bestimmung der anaëroben Atmung (diese wird vielfach als Gärung bezeichnet, was jedoch zu dem Paradoxon führt, daß bestimmte Pflanzen und Tiere nicht atmen). Dem Vorgehen liegt eine Farbreaktion zugrunde, deren Intensität kolorimetrisch durch Vergleichen bestimmt werden kann.

Farbreaktionen zur Bestimmung von Lebensfunktionen erfreuen sich in der Mikrobiologie wegen ihrer Sinnfälligkeit einer besonderen Wertschätzung, beginnend von der Verwendung des Lackmus zur Bestimmung vital entstehender Säure (v. Drigalski-Conradi) bis zur Methylenblaureduktion (Neißer-Wechsberg) oder der Benzidinbläuung durch bestimmte Bakterien (Penfold). Keine Farbreaktion hat jedoch den Anspruch gemacht, ein reiner Atmungsindikator zu sein. Was speziell die Methylenblaureduktion betrifft, so geht diese nach den eingehenden Untersuchungen von Thunberg mit der Atmung der Zellen nicht parallel, sie kann sogar von bestimmten toten Substanzen zustande gebracht werden. Auch hat sie den Nachteil, daß mit einem Körper gearbeitet werden muß, der an sich nicht wirkungslos ist. Der Versuch von Keyßer, die von Conradi mit Erfolg in die bakteriologische Technik eingeführte Reduktion von Natrium tellurosum als Reagens auf die

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-16 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lebenstätigkeit von Zellen schlechthin zu verwenden, mußte daran scheitern, daß diese Reduktion auch durch totes Material hervorgebracht werden kann. Dagegen konnte Lipschitz zeigen, daß die Reduktion von aromatischen Nitroverbindungen zu Hydroxylamin bzw. zu Amidokörpern durch lebende Zellen mit deren Atmung parallel geht, also als Atmungsindikator verwendet werden kann. Er untersuchte daher die Atmung überlebender Kaltblüterzellen in wasserklarer Lösung, indem er Nitrobenzol zusetzte und das entstehende Phenylhydroxylamin, das in Lösung leicht gelblich ist, bestimmte. Diese Reaktion ist jedoch daran gebunden, daß das verwendete Milieu keine Eigenfarbe besitzt. Da diese Vorbedingung von den bakteriologischen Nährböden nicht erfüllt wird, außerdem die Wirkung von Substanzen mit Farbstoffcharakter auf die Atmung gerade interessiert, mußte nach einem anderen Indikator mit stärkerer Färbekraft gesucht werden. Dadurch konnte gleichzeitig die Reaktion bedeutend verfeinert werden.

Zu diesem Zwecke wird folgendermaßen vorgegangen: Zu dem die frischen Bakterien oder Zellen enthaltenden Milieu wird nicht färbende Lösung von Nitroanthrachinon in zweckmäßiger Menge zugegeben. Beim Arbeiten mit Bakterienaufschwemmungen bzw. Kulturen oder mit Zellsuspensionen mit rund 2 g Zellbrei in 10 ccm nimmt man zweckmäßig 1,0—2,5 ccm einer warm hergestellten haltbaren Lösung 1:50 des Nitrokörpers und füllt auf 10 ccm mit dem Prüfungsobjekt auf, oder man arbeitet im gleichen Mischungsverhältnis mit kleineren absoluten Mengen. Z. B. werden 1 ccm 24-stünd. Fleischbrühekultur von Staphylococcus albus mit 3 ccm physiol. Kochsalzlösung und 0,5 ccm Nitroanthrachinonverdünnung 1:50 bis 1:100 versetzt. Dazu kommt im Volumen 0,5 die Substanz, deren Einfluß auf die Atmung untersucht werden soll, und in den Kontrollen an ihrer Stelle 0,5 ccm physiol. Kochsalzlösung. Die Röhrchen (man setzt bei der Einfachheit der Reaktion immer gleich mehrere gleichartige an) kommen in das Wasserbad von 37° (Brutschrank ist unzweckmäßig) und werden hier dauernd beobachtet. An Stelle der Bakterien kann man auch dichte Protozoenaufschwemmungen oder auch 0,5—1,0 g Zellbrei nehmen. Doch empfiehlt es sich, im letzteren Falle mit größeren absoluten Mengen zu arbeiten in der gleichen Proportion wie oben, da sonst die Wiegefehler zu groß werden.

Kaltblüterzellen kann man bei Zimmertemperatur einwirken lassen. Die Alkalität der Aufschwemmungsflüssigkeit bzw. Kulturflüssigkeit wird vor dem Versuch bestimmt. Eine p_h von 7,4—7,8 hat sich bewährt. Zur Aufschwemmung eignen sich die üblichen Bakteriennährböden, physiol. Kochsalzlösung, Ringer-Lösung und Phosphatpuffergemisch.

Durch ihre Atmung wandelt die lebende bzw. die überlebende Zelle die Nitrogruppe des Anthrachinons über das Hydrazin zur Amidogruppe um. Es entsteht also Amidoanthrachinon, in diesem Falle ein intensiv roter lichtechter Farbstoff, welcher Wolle besonders beim Aufkochen gut und haltbar färbt. Die Bestimmung der Stärke der Rötung gibt die Menge des in der Farblösung enthaltenen Amidoanthrachinons an. Indem man die absolute Menge des roten Farbstoffs bestimmt, welcher durch die Atmungstätigkeit der verwandten Mikroorganismen in einer bestimmten Zeit aus der entsprechenden Nitroverbindung gebildet wird, erhält man ein genaues Maß für die Atmungsintensität bzw. Geschwindigkeit der geprüften Bakterien oder Zellen. Je nach dem Fortschreiten der Reaktion bricht man den Versuch nach 1—4 Std. ab. Längere Ausdehnung ermöglicht Störungen durch das Wuchern von Luftkeimen.

Generated on 2019-09-16 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Erfordert der Versuch eine längere Beobachtungszeit, so muß er unter sterilen Kautelen durchgeführt werden, nach vorheriger Dampfsterilisation der Reagenzlösung. Die Röhrchen sind dann vor Ablesung auf Reinheit zu kontrollieren. Bei schlechten Atmern (Meningokokken, Pneumokokken, Typhus- und Paratyphusbazillen) nimmt man mehr Bakterienmaterial und weniger Verdünnungsflüssigkeit [1]).

Bei Orientierungsversuchen kann man sich mit der groben Schätzung der Rötung, ähnlich wie bei hämolytischen Versuchen, begnügen. Zur genauen Bestimmung benutzt man irgendeine kolorimetrische Methode, also beispielsweise den Walpoleschen Komparator oder ein Keilkolorimeter.

Im ersten Fall stellt man sich unter Verwendung eines chemisch reinen Amidoanthrachinons eine Reihe fallender Verdünnungen her. Zweckmäßig ist eine Skala aus 14 Röhrchen, welche in 10 ccm enthalten 4,0, 3,5, 3,0, 2,5, 1,75, 1,50, 1,25, 1,00, 0,75, 0,5, 0,4, 0,2, 0,1 mg. Die Röhrchen, welche abgeschmolzen haltbar sind, müssen vorher auf gleiche Durchmesser geprüft werden, indem man bestimmt, ob eine gleiche Flüssigkeitsmenge in ihnen gleich hoch steht (10 ccm sollen eine ungefähr 8 cm hohe Flüssigkeitssäule geben).

Die zu messenden Farblösungen werden, wenn nötig, zentrifugiert und der klare Abguß in Reagenzgläser von gleicher Weite wie die Teströhrchen gefüllt. Unter normalen Bedingungen wird der Farbton zu dunkel sein. Man verdünnt dann mit destilliertem Wasser im bestimmten Verhältnis, bis der Farbton innerhalb der hergestellten Skala liegt. Oberhalb der erwähnten Konzentration sind keine deutlichen Unterschiede mit dem Auge mehr möglich. Unter Verwendung der Mattscheibe bestimmt man die beiden Teströhrchen, welche oberhalb und unterhalb des erhaltenen Farbtones liegen. Danach wird der Gehalt der ursprünglichen Farblösung an Amidoanthrachinon unter Berücksichtigung der angewendeten Verdünnung abgelesen. Arbeitet man in gefärbtem Milieu, so stellt man ein Röhrchen, das dieses allein enthält, vor die zu vergleichenden Teströhrchen, um die eigene Farbe zu dem Anthrachinonrot hinzu zu addieren.

Bei Benutzung eines Keiles, z. B. nach Autenrieth und Königsberg, stellt man sich die Keilflüssigkeit aus dem chemisch reinen Amidoanthrachinon her und gibt in den Trog die klare, zu bestimmende Lösung ohne weiteres oder verdünnt. Vor den Keil muß man gegebenenfalls auch hier eine Schicht des gefärbten Nährbodens usw. in gleicher Dicke wie im Trog vorschalten.

In der Mehrzahl der Fälle wird eine derartige Vergleichsbestimmung mit Amidorotröhrchen überflüssig sein. Ueberall dort, wo es darauf ankommt, festzustellen, ob durch bestimmte Zusätze oder Einwirkungen eine Hemmung, eine Förderung oder keine Wirkung auf die Atmung der Bakterien, Protozoen, Zellen usw. ausgeübt wird, wird man sich auf den Vergleich der Versuchsröhrchen mit den Kontrollröhrchen beschränken können. Man verdünnt dann die Versuchsröhrchen einer Reihe so lange mit abgemessenen Mengen einer geeigneten Verdünnungsflüssigkeit, bis sie die Rotstärke des hellsten Röhrchens der Reihe, geprüft im Komparator mit Milchglasscheibe, erreicht haben. In denjenigen Röhrchen, welche größere Zusatzmengen verbrauchen als die Kontrollen, ergibt sich

1) „Nitroantrachinon zu biologischen Zwecken" und „Amidoanthrachinon zu biologischen Zwecken" sind von den Farbwerken vorm. Meister Lucius & Brüning in Höchst a./M. zu beziehen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eine Atmungsförderung, in denjenigen Röhrchen, welche weniger als die Kontrollen verbrauchen, eine Atemhemmung. Als Verdünnungsflüssigkeit dient entweder Wasser oder eine dem Vergleichsröhrchen entsprechende Mischung aus Wasser und Nährboden, bzw. sonstiger verwandter Substanzen mit Eigenfarbe. Werden im Versuche Zusätze mit verschiedenen Eigenfarben neben dem Reagens verwendet, so kann man dies durch Vorschalten gleicher Lösungen im Komparator ausschalten.

Will man die Ergebnisse eines Versuchs dauernd fixieren, so wirft man kleine Stückchen aus reinem, weißem Wollstoff nach Abschluß des Versuchs in die Versuchsröhrchen, kocht auf, wäscht unter dem Wasserstrahl aus und trocknet die Wollstückchen. Da die Mehrzahl der Eigenfarben der Nährböden die Wollstückchen nicht färben, kann man auf diese Weise die rote Färbung des Amidokörpers rein zur Darstellung bringen. Enthält der Nährboden Eiweiß, wie Serum oder Hämoglobin, so ist es zweckmäßig, durch Aufkochen nach Zusatz von einigen Körnchen Kochsalz und einem Tropfen Essigsäure zu enteiweißen und dann erst die Wolle zu färben, da man sonst leicht die Färbung störende Eiweißniederschläge auf die Wollstückchen bekommt. Man kann dann später das gefärbte Wollstückchen einmal kurz in Wasser mit einem Zusatz von Ammoniak abspülen.

Die Reaktion ist möglichst fein eingestellt, jedoch so, daß auf einfachen Nährböden eine unspezifische Reaktion nicht störend wirkt. Wo Nährböden mit sehr reichlicher Menge reduzierender Substanzen verwendet werden, muß jedoch eine unspezifische Reaktion, welche sich bei der Färbekraft des entstehenden roten Farbstoffes sofort bemerkbar macht, ausgeschaltet werden (Vorprobe durch Ueberschichten). Man läßt dann einen Kontrollversuch mit abgetötetem Virus mitlaufen und subtrahiert den erhaltenen Wert als Korrektur bei der endgültigen Bestimmung.

Da die Farbreaktion nach dieser Korrektur, wie erwähnt, auf einem exquisiten Lebensvorgang der zugesetzten Zellen beruht, so kann man sie als Reaktion auf das Vorhandensein lebendiger Keime prinzipiell auch dort anwenden, wo dieses Virus wegen seiner Kleinheit nicht sichtbar ist. Das kleinste bisher geprüfte Virus ist dasjenige der Lungenseuche. Wenn man mit Bakterienkulturen arbeitet, so muß man berücksichtigen, daß nur frisch in Fortpflanzung begriffene Kulturen eine lebhafte Atmung zeigen, daß aber alte, wenn auch noch überimpfbare Kulturen für die Reaktion wenig geeignet sind. Schon 48-stünd. Kulturen können z. B. bei Meningokokken unbrauchbar sein. Mit der Methode können dann weiterhin die Einwirkungen schädigender Substanzen und Antikörper auf Mikroorganismen und Zellen untersucht werden. Z. B. zeigt es sich, daß die bakteriziden Sera, wie das Höchster Strepto- und Pneumokokkenserum, auf die zugehörigen Bakterien in spezifischer Weise atemhemmend wirken. Dort, wo diese Hemmung weniger ausgeprägt ist, macht sie sich nur dadurch bemerkbar, daß die vom normalen Serum ausgehende Atemförderung unterbleibt. Dagegen wirkt ein reines Antitoxin, wie z. B. das Höchster Diphtherieheilserum, auf die Diphtheriebazillen nicht ein. Mit der gleichen Methode kann man dann auch die Einwirkung chemischer Substanzen auf lebende Zellen prüfen [1]).

1) Vgl. diese Zeitschr. Abt. I Orig. Bd. 89. 1922. Beih. S. 147.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber den Wert des Kartoffelstärkepeptonwassers nach Kodama und Takeda für die praktische Choleradiagnose.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung (Bakteriologisches Laboratorium) des Reichsgesundheitsamtes (Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. L. Haendel).]

Von Prof. Dr. **E. Gildemeister** und Dr. **Kurt Herzberg.**

In Nr. 7/8 des 88. Bandes dieser Zeitschrift berichten Kodama und Takeda über eine neue biologische Reaktion der Choleravibrionen, deren Verwendung — neben den sonst üblichen Methoden — für den Nachweis von Choleravibrionen in Stuhlproben ihnen vorteilhaft erscheint. Die genannten Autoren gingen von der bekannten Tatsache aus, daß Choleravibrionen im Gegensatz zu den sonst im Darm sich findenden Bakterien diastatische Fermente bilden (Bitter, Fermi, Eijkman, Went). Zum Nachweis dieser Fermente bedienten sie sich einer Nährlösung, die aus 1 g Pepton, 0,5 g Kartoffelstärke, 2 ccm 10-proz. Sodalösung und 100 ccm Wasser besteht. Die Nährlösung wird zu 5 ccm in sterile Röhrchen abgefüllt und an 2 oder 3 aufeinanderfolgenden Tagen sterilisiert. Setzt man zu einer solchen Nährlösung Jodjodkaliumlösung, so erhält man die bekannte Stärkereaktion, d. h. die Lösung färbt sich intensiv blau. Wird die Nährlösung jedoch zuvor mit Choleravibrionen beimpft und bebrütet, so tritt nach Kodama und Takeda eine allmählich stärker werdende Verminderung der am Boden des Reagenzglases befindlichen Stärke ein; zweitens gibt die Nährlösung alsdann auf Zusatz von Lugolscher Lösung nicht mehr die Stärkereaktion, sondern färbt sich braun-gelbweiß, ohne einen Niederschlag zu bilden. Bereits 24-stünd. Kulturen des Choleravibrio zeigten diesen Stärkeabbau. Außer Choleravibrionen gaben nach dieser Zeit keine anderen Bakterien einen derartigen Ausschlag. Geprüft wurden Vibrionen, Typhus-, Paratyphus A-, Paratyphus B-, Coli-, Ruhrbazillen, Staphylokokken, Milzbrand-, Heubazillen, Rohhefe. Nur die Vibrionen (3 Stämme) zeigten, zum Teil erst nach längerer Bebrütung, ein den Choleravibrionen entsprechendes Verhalten, auch der Milzbrandbazillus wies nach mehrtägiger Bebrütung einen geringen Abbau von Stärke auf. Auf Grund dieser Versuchsergebnisse sprechen sich Kodama und Takeda dahin aus, daß, wenn eine Probe von choleraverdächtigem Stuhl in Kartoffelstärkepeptonwasser nach 7- bis 24-stünd. Bebrütung bei Zusatz von Jodjodkaliumlösung nicht mehr die Stärkereaktion gibt, das Vorhandensein von Choleravibrionen vermutet werden kann. Abgesehen von dem biologischen Interesse, daß das Verfahren der beiden Autoren verdient, veranlaßte uns die Einfachheit seiner Ausführung, es auf seine Brauchbarkeit für die praktische Choleradiagnose hin zu prüfen. Hiergegen schien allerdings von vornherein

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Umstand zu sprechen, daß das Verfahren keine endgültige Diagnose, sondern nur eine Vermutungsdiagnose gestattet. Immerhin schien dieses Hilfsmittel, auch wenn es nur einen gewissen Grad von Verläßlichkeit besitzen sollte, wert, nachgeprüft zu werden.

Zunächst sei darauf hingewiesen, daß die Ausnutzung der Fähigkeit der Choleravibrionen, diastatisches Ferment zu bilden, zur Differenzierung von anderen Bakterien nicht neu ist. Carl Lange hat bereits 1916 (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 81. S. 138) einen Stärkeagar für die Choleradiagnose angegeben. Auf diesem an sich trüben Nährboden machen sich Choleravibrionen nach 14—24 Std. durch einen deutlichen Hof bemerkbar, den die sonstigen Darmbakterien zumeist vermissen lassen. Diese Aufhellung des Nährbodens in der Umgebung der Choleravibrionen ist nichts anderes als eine Wirkung des von den Choleravibrionen gebildeten diastatischen Fermentes.

Wir haben uns bei unseren Versuchen genau an die Vorschriften von Kodama und Takeda gehalten und ein möglichst umfangreiches Kulturmaterial herangezogen. Geprüft wurden:

26 Kulturen des Choleravibrio, 10 Kulturen von Vibrionen, 6 Kulturen des Typhus-Bazillus, 6 Kulturen des Paratyphus A-Bazillus, 6 Kulturen des Paratyphus B-Bazillus, 6 Kulturen des Bac. enteritidis Gärtner, 6 Kulturen des Shiga-Kruse-Ruhrbazillus, 6 Kulturen des Flexner-Ruhrbazillus, 6 Kulturen des Y-Ruhrbazillus, 6 Kulturen des B. coli, 6 Kulturen des B. faecalis alcaligenes, 8 Kulturen des Proteus-Bazillus, 3 Kulturen von Staphylokokken, 3 Kulturen von Streptokokken, 2 Kulturen des Milzbrandbazillus, 1 Kultur des Bac. pyocyaneus.

Bemerkt sei, daß die verwendeten Kulturen, insbesondere die Cholerastämme, mehr oder weniger alte Sammlungsstämme sind. Ferner wurden zu den Versuchen 5 verschiedene Kartoffelstärkeproben herangezogen, wobei sich zeigte, was vorweg gesagt werden mag, daß die Güte der Kartoffelstärke keine Rolle spielt, eher, wie uns scheinen will, ihr Alter. Jedenfalls gab eine wahrscheinlich schon mehrere Jahre alte Kartoffelstärke abweichende Ergebnisse.

Im einzelnen ist über unsere Versuchsergebnisse folgendes zu berichten. Nach 24-stünd. Züchtung in 5 ccm Kartoffelstärkepeptonwasser nach Kodama und Takeda ergaben auf Zusatz von 5 ccm Jodjodkaliumlösung von 26 Cholerakulturen 24 keine Stärkereaktion, 2 dagegen in ganz ausgesprochener Weise. Von letzteren beiden Kulturen griff die eine erst nach 14-täg. Bebrütung in der Nährlösung ein wenig die Stärke an, während die andere dies auch nach dieser Zeit nicht tat; und trotzdem waren diese beiden Stämme einwandfreie Cholerakulturen. Bei den 24 Cholerastämmen, die nachweisbar innerhalb 24 Std. diastatisches Ferment bildeten, trat auf Zusatz von Lugolscher Lösung stets ein Niederschlag von gelbbrauner bis braungelber Farbe auf, der auch nach 24 Std. bestand. Ebenso wurde die beimpfte Nährlösung nach Zusatz von Lugolscher Lösung gelb bis braungelb, aber niemals weiß, auch nicht nach längerem Stehen. Ferner konnte eine Verminderung des am Boden der unfiltriert zur Verwendung kommenden Nährlösung vorhandenen Niederschlages mit Sicherheit nicht erkannt werden. Worauf diese Differenzen zwischen unseren Beobachtungen und denen der japanischen Autoren beruhen, ist nicht ohne weiteres ersichtlich.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Von den sonst geprüften Kulturen verhielten sich nach 24-stünd. Bebrütung 8 Vibrionenstämme (von 10), ferner je ein Paratyphus B-Stamm, ein Proteus, ein Staphylococcus und ein Milzbrand völlig oder nahezu völlig wie Choleravibrionen. Bei längerer Bebrütung (8 Tage) ließen auch ein Typhus-, ein Paratyphus A- und der zweite Milzbrandstamm das Vorhandensein diastatischer Fermente erkennen. Sind diese nur in geringem Grade vorhanden, so kommt es nicht zu einem völligen Abbau der Stärke, infolgedessen wird die Flüssigkeit auf Zusatz von Lugolscher Lösung nicht gelb oder gelbbraun, sondern dunkelbraun bis burgunderrot.

Aus unseren Versuchen geht somit hervor, daß nicht alle Cholerastämme genügend diastatisches Ferment bilden, um die in dem Kartoffelstärkepeptonwasser vorhandene Stärke in 24 Std. abzubauen, daß Vibrionen verschiedenster Herkunft sich zum größten Teil wie Choleravibrionen verhalten, und daß gelegentlich auch andere im Darm vorkommende Bakterien in gleicher Weise diastatisches Ferment bilden können wie Choleravibrionen. Damit erscheint uns die praktische Verwendbarkeit der Reaktion noch mehr eingeschränkt, als dies die Arbeit von Kodama und Takeda zunächst erkennen ließ. Es dürfte sich daher die Anwendung der Reaktion in der praktischen Choleradiagnose nicht empfehlen.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Frage des Influenzaerregers nach Versuchen an Menschen und Tieren.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Tokio.]

Von Dozent Dr. **Fusao Ishiwara.**

Mit 3 Kurven im Text.

I. Nachweis von Pfeifferschen Bazillen bei Kranken und Gesunden.

Gelegentlich der Influenzaepidemie 1917/18 in Japan habe ich einige Untersuchungen über den Influenzaerreger angestellt, über die ich im folgenden kurz berichten will. Ich habe das Sputum von typischen Influenzakranken frisch genommen, gewaschen und Kulturen auf Lewinthalschem oder Taubenblutagar-Ausstrichplatten angelegt. Von Pneumonieleichen habe ich nach Entfernung der Rippenknorpel pneumonische Herde oder Punktionsflüssigkeit zur Untersuchung verwendet. Mikroskopisch fiel mir auf, daß, entgegen den Angaben in der Literatur, Pfeiffersche Bazillen in den großen Bronchien nicht in Reinkultur zu sehen waren, sondern daß sie fast immer mit grampositiven Diplokokken, Streptokokken oder gramnegativen Diplokokken gemischt waren. Besonders zahlreich wurden diese Kokken beim weiteren Fortschritt der Krankheit. Die Pfeifferschen Bazillen lagen meistens interzellulär.

Der positive Nachweis von Pfeifferschen Bazillen im Sputum von 165 Influenzakranken gelang 100mal = 61 Proz., in pneumonischen Herden,

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-16 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

17 Fällen von 11 mal = 65 Proz. Außerdem wurden in gleicher Weise Sputa von Nichtinfluenzakranken untersucht. Dieselben betrafen 15 Diphtheriekranke (6 mal positiv), 9 Scharlachkranke (3 mal positiv), 53 Phthisiker (21 mal positiv). 76 andere Krankheiten, wie Nephritis, Sarkom waren 13 mal positiv, 30 gesunde Menschen 4 mal. In 13 phthisischen Leichen gelang der Nachweis von Pfeifferschen Bazillen 3 mal. Zusammen fanden sich also in 196 Nichtinfluenzafällen 50 positive (= 25 Proz.). Hierbei ergab sich, daß fast 25 Proz. Pfeiffersche Bazillen im Sputum hatten, jedoch wurde dieser Befund zur Zeit der Epidemie erhoben. 32 Phthisiker, die in epidemiefreier Zeit untersucht wurden, hatten nur 2mal Pfeiffersche Bazillen.

II. Tierversuche mit Influenzabazillen.

a) Virulenzversuche. Des weiteren habe ich Versuche über die Virulenz der Pfeifferschen Bazillen bei Influenza- und Nichtinfluenzakranken gemacht. Die hierzu benützten Bazillen habe ich frisch von Kranken reingezüchtet und Mäusen intraperitoneal injiziert. Zwischen beiden bemerkte ich keinen Unterschied. Je nach dem benützten Stamme zeigte die letale Dosis eine große Verschiedenheit und schwankte von 0,5—5,0 mg.

Ihre Virulenz vermindert sich außerordentlich deutlich durch Züchtung auf künstlichen Nährböden; manchmal habe ich nach 20 Generationen einen ganz avirulent gewordenen Stamm beobachtet.

Impft man Mäuse mit Pfeifferschen Bazillen, so kommt, entgegen den Angaben in der Literatur, eine Bakteriämie vor, und so gelang es leicht, die Bazillen aus dem Blute zu züchten.

b) Pathologisch-anatomische Untersuchungen. Bei der Influenza kommen oft in verschiedenen Organen Blutungen vor, die klinisch z. B. als Nasen- oder Darmblutungen in die Erscheinung treten, oder auch als kapillare Blutungen in der Lunge und Milz. Bei Gelenk-, subkutaner und intraperitonealer Impfung von Mäusen mit Pfeifferschen Bazillen habe ich auch Blutungen an der Injektionsstelle, z. B. im Peritoneum oder im Gelenk, beobachtet. Die Milz zeigte keine Vergrößerung, jedoch mikroskopisch ein typisches Bild von Blutüberfüllung, Leukozyteninfiltration und Karyorrhexis resp. -lysis. Dieses Bild ist ähnlich wie beim Menschen, war aber nicht für Pfeiffersche Bazillen spezifisch, sondern wurde ebenso auch durch andere Bazillen verursacht. So habe ich bei subkutaner Verimpfung von 2 Oesen B. coli, Paratyphus, Milzbrandbazillen und Pneumokokken Lungenblutungen gesehen; bei Verimpfung von Pneumobazillen und B. coli, Milzbrandbazillen und Streptokokken Milzblutungen. Im Hinblick auf die Angaben Levys[1]), nach denen bei der Influenza die Lymphozyten vermehrt und die polynukleären Leukozyten vermindert sind, habe ich auf Affen und Kaninchen Pfeiffersche Bazillen verimpft, die Leukozytenmenge gezählt, eine deutliche Leukozytenverminderung um 20 bis 80 Proz. festgestellt; die Lymphozyten vermehrten sich um 15 Proz., jedoch war diese Erscheinung nicht spezifisch für die Pfeifferschen Bazillen, sondern trat auch bei anderen Bakterien, z. B. Typhusbazillen und katarrhalischen Diplokokken auf; dagegen bemerkte man bei Ver-

1) Levy, Dtsch. med. Wochenschr. 1918. S. 973.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

impfung von Staphylokokken und Ruhrbazillen eine Leukozytose von 25 Proz.

Auch habe ich mit Pfeifferschen Bazillen mehrere Kaninchen intradural in einer Dosis von 0,1 mg täglich 3mal injiziert. Die Tiere konnten nach einigen Stunden nicht mehr laufen, sondern nur noch kriechen; nach 3—4 Tagen erfolgte ihr Tod. Ihre Dura zeigte Hyperämie, aber keine Blutung und keine Infiltration. Die Lähmungserscheinungen waren der Influenzalähmung ähnlich; sie kamen vielleicht vom Neurotoxin dieser Bazillen.

III. Immunitätsreaktionen mit Pfeifferschen Bazillen.

Ferner habe ich Versuche in serologischer Richtung angestellt. Zu diesem Zwecke brauchte ich im ganzen 38 Sera; 30 stammten von Influenzakranken ohne Komplikation, 8 von Influenzapneumonien. 7 Sera davon hatte ich 2 Tage nach dem Fieber oder während des Fiebers entnommen; 15 3–5 Tage und 16 6—16 Tage nach dem Fieber. Gleichzeitig habe ich Pferde und Meerschweinchen immunisiert, und zwar wurden beim Pferd 5—8,0 mg 6mal intravenös, beim Meerschweinchen 0,7 mg 9mal intraperitoneal injiziert.

a) Präzipitationsversuche. 2 mg Pfeifferscher Bazillen wurden in 1 ccm 1-proz. Antiforminlösung aufgeschwemmt, 1 Nacht geschüttelt, neutralisiert, stark zentrifugiert und mit Kaninchensera oder Immunsera überschichtet. Pferdeimmunserum reagierte stärker als Meerschweinchenimmunserum. Die Sera der 33 Influenzakranken reagierten nur 7mal positiv, und zwar durchweg viel schwächer als die Immunsera. Von den Sera der 20 Nichtinfluenzakranken reagierten 4 gleichfalls nur ganz schwach. Ein Vergleich der Reaktionsstärke bei Verwendung Pfeifferscher Bazillen von Influenza- und Nichtinfluenzakranken ergab keinen Unterschied.

b) Agglutinationsversuche. Pfeiffersche Bazillen wurden in gleicher Menge wie für die vorigen Versuche in 0,2-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und zur Entfernung grober Flocken leicht zentrifugiert. Meerschweinchen- und Kaninchenimmunsera ergaben bis zu 1 : 200 positive Reaktion, bei Pferdesera bis zu 1 : 2000.

Die Untersuchungsergebnisse bei Influenza sind in folgender Tab. 1 zusammengestellt.

Tabelle 1.

	Serumverdünnung.							
	1 : 25	1 : 50	1 : 100	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	Anzahl der positiven insgesamt	d. h. in Proz.
Sera von 32 Influenzakranken	2[1])	5	16	3	2	0	28	87
Sera von 17 Nichtinfluenzakranken	0	3	1	0	1	0	5	29

Hiernach ist die positive Agglutination mit Pfeifferschen Bazillen für Influenzakranke kein spezifisches Phänomen. Auch habe ich beobachtet, daß Pfeiffersche Bazillen in einfacher Eiweißlösuug (Eier-

1) Die Ziffern geben die Anzahl der positiv Reagierenden an.

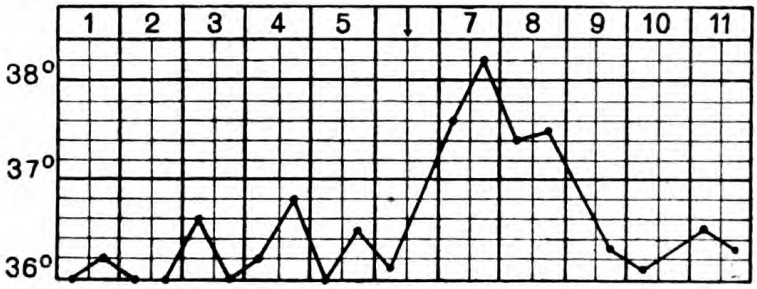
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

albumin) noch in stärkeren (1:50) Verdünnungen agglutiniert werden. Auch hier bemerkte ich keinen Unterschied zwischen den Pfeifferschen Bazillen von Influenza- und Nichtinfluenzakranken.

c) Komplementbindungsversuche. Hierzu benutzte ich 5 verschiedene Stämme von Influenzakranken. Krankensera von 26 Fällen ergaben alle ein negatives Resultat; nur ein einziges war ganz schwach positiv. Dagegen ergab Pferde-Immunserum eine stark positive Reaktion; 2 Kaninchen-, 4 Meerschweinchen-, 1 Ziegen-Immunsera ergaben alle ein negatives Resultat.

d) Bakteriolyseversuche nach Neißer. Versuche mit 18 Kranken- und 3 Nichtkrankenseris verliefen alle negativ; nur zeigte auch hier das Pferde-Immunserum eine, allerdings geringe Verminderung der Bakterienzahl.

e) Opsoninversuche. In einer Serie von 5 Influenzakranken und 2 Nichtinfluenzakranken war der Index 1,4; in einer zweiten 1 Jahr später untersuchten Serie war bei 15 Influenzakranken und 3 Nichtinfluenzakranken der Index 1,1. In einer Serie von einem Pferdeimmun- und Normalserum war der Index 1,3; ein Tropinversuch nach Neufeld mit 2 Influenzakranken- und einem Normalserum, einem Immun-, einem Normalpferdeserum zeigte kein Resultat.



Fieberkurve 1. Herr Y. November 1917.

f) Meiostagminreaktion. Eine Oese Pfeiffersche Bazillen wurde in 1 ccm 1-proz. kochsalzmethylalkoholischer Antiforminlösung (0,85-proz. NaCl, 10-proz. Methylalkohol) 1 Nacht geschüttelt und geeicht. Krankensera wurde 20-fach verdünnt; beide gemischte Lösungen wurden 2 Std. bei 37° C aufgestellt und mit dem Traubeschen Stalagmometer geprüft.

Die Versuche ergaben bei dem Influenzakrankenserum kein Resultat, waren aber bei dem Pferdeimmunserum schwach positiv. Beim Influenzakranken betrug die Differenz 0,13 mehr, bei Pferdeimmunsera 0,94.

IV. Versuche am Menschen mit Pfeifferschen Bazillen und filtrierbarem Virus.

Von Kulturen, die frisch von Kranken isoliert und in 2. Generation fortgezüchtet waren, habe ich Aufschwemmungen in Blutbouillon (1,0 ccm Bouillon und 1 Tropfen Kaninchenblut) gemacht und hiermit an 4 Menschen eine tiefe Auspinselung im Rachen angestellt.

Von ihnen bekam nur einer nach 2 Tagen Fieber von 38,2° und am nächsten Tage von 37,5° (vgl. Fieberkurve 1). Am folgenden Tage war er fieberfrei, klagte aber noch über Kopfschmerzen, Appetitlosigkeit und Brustbeklemmung, nicht aber über Gelenkschmerzen. Es ist schwer, zu entscheiden, ob diese Erscheinungen als Influenzasymptome gedeutet werden dürfen. Ich bemerke noch, daß sämtliche Versuchspersonen

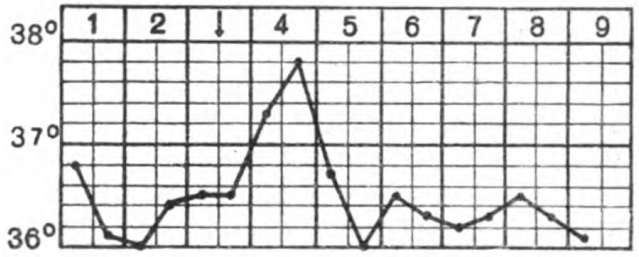
Generated on 2019-09-16 14:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

schon seit sehr langer Zeit kein Fieber gehabt hatten, insbesondere vorher nicht an Influenza erkrankt waren.

Ferner habe ich 3 gesunden Menschen frisch isolierte Influenzabazillen in einer Menge von 0,5 ccm einer ganz frisch isolierten Influenzabazillenreinkultur-Aufschwemmung (1 Oese pro 1 ccm Bouillon) subkutan am Oberschenkel injiziert. Es erfolgten keine Reaktionen.

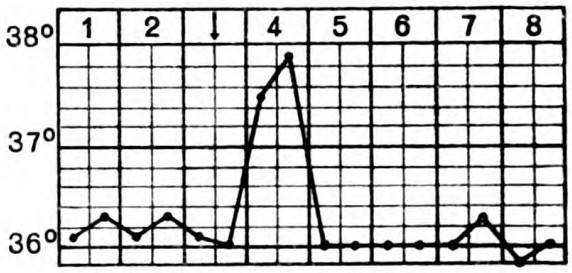
Von besonderem Interesse waren für mich auch die neueren Arbeiten, die für die Wahrscheinlichkeit eines filtrierbaren Virus sich aussprechen (Schöppler, Dold, Kruse, Angerer u. a.). Ich habe daher Sputum von Influenzakranken durch Berkefeld-Filter filtriert und das Filtrat an 5 Menschen subkutan verimpft. Die Versuche verliefen im einzelnen, wie folgt:

1) Sputum eines Influenzakranken wurde mit Pfeifferschen Bazillen und Pneumokokken in Ringer-Lösung 5-fach verdünnt, im Mörser gut verrieben und durch Berkefeld-Filter filtriert. Vom Filtrat wurden 5 ccm Herrn Fuzi subkutan verimpft. Im Augenblick der Impfung waren 6 Std. seit der Entleerung des Sputums verflossen. 8 Std. nach der Injektion klagte die Versuchsperson über heftige Kopfschmerzen und derartige Schmerzen an der Injektionsstelle, daß man sie nicht berühren durfte. Am nächsten Tage Temp. 37,8 (Fieberkurve 2), Appetitlosigkeit, Brustschmerzen, keine Gelenkschmerzen. Nach 2 Tagen waren alle diese Erscheinungen vorüber; nur hielt ein leichtes Kopfweh noch eine Woche an.



Fieberkurve 2. Herr F. Februar 1918.

2) In gleicher Weise vorbereitetes Material eines anderen Kranken mit Pfeifferschen Bazillen und Pneumokokken habe ich in gleicher Dosis Herrn I eingeimpft, der Erfolg war derselbe; am nächsten Tage 37,9 Temp., am darauffolgenden starkes Kopfweh, das 2 Tage anhielt, Schmerzen an der Impfstelle, Durchfall, keine Gelenkschmerzen (Fieberkurve 3).



Fieberkurve 3. Herr I. Februar 1918.

3) Sputum ohne Pfeiffersche Bazillen filtrierte ich wie vorher und verimpfte das Filtrat in gleicher Menge auf Herrn Yoshi. Die Symptome waren die gleichen wie in den beiden vorangegangenen Versuchen. Das Fieber erreichte 37,7°.

4) Wie 3). Die Versuchsperson hatte am nächsten und übernächsten Tage eine Temper. von 37,5.

5) Sputum mit Pfeifferschen Bazillen und Pneumokokken, wie vorher behandelt und auf Herrn Iwa verimpft, der 1 Mon. vorher Influenza gehabt hatte. Fieber blieb aus.

Zur Kontrolle habe ich in ganz gleicher Weise Sputa von tuberkulösen Kranken mit und ohne Influenzabazillen zum Versuche herangezogen, die an Influenza nicht gelitten hatten. Die Ergebnisse waren folgende:

1) Sputum mit Pfeifferschen Bazillen und Tuberkelbazillen filtriert wie vorher und auf Herrn K. subkutan verimpft. Es erfolgte kein Fieber, aber Schmerzhaftigkeit für 1 Woche an der Impfstelle, ferner Appetitlosigkeit und Verstopfung.

2) Sputum ohne Pfeiffersche Bazillen, nur mit Tuberkelbazillen, filtriert wie vorher und auf Herrn S. verimpft. Ergebnis: kein Fieber, jedoch Kopfweh und für

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2 Tage Schmerzen an der Impfstelle; in der einen Nacht heftige Brustschmerzen, so daß der Patient nicht ruhig schlafen konnte.

Sputumfiltrate von Influenzakranken habe ich 8 gesunden Menschen inhalieren lassen; zur Inhalation benutzte ich einen mit Gummigebläse betriebenen Spray. Die Inhalation dauerte 30 Sek.; doch zeigte sich kein Resultat.

Entsprechende Versuche habe ich auch an Affen und Ratten angestellt. Sputum von Influenzakranken wurde mit einem Gemisch von Blut und Ringer-Lösung verdünnt, durch Reichel- oder Berkefeld-Filter filtriert und das Filtrat auf Affen in einer Menge von 5 ccm subkutan, intraperitoneal oder intrapulmonal verimpft. Es erfolgte keine Reaktion, auch keine Leukopenie. Ferner habe ich Lungengewebe von Influenzapneumonie zerquetscht, filtriert, Pfeiffersche Bazillen und Pneumokokken zugefügt und auf 3 Affen verimpft. Auch hier zeigte sich kein Erfolg.

Schließlich habe ich nach dem Vorgange Schöpplers[1]) Sputum von Influenzakranken subkutan auf 5 weiße Ratten verimpft. Alle 5 waren nach 3 Tagen tot. Blut und Lunge von ihnen habe ich dann im Mörser zerrieben, wie früher filtriert und das Filtrat auf weitere 5 Ratten und 1 Affen subkutan verimpft, ich erzielte aber keinerlei Reaktion.

Zusammenfassung.

1) Bei einer Influenzaepidemie in Japan 1917—18 gelang der positive Nachweis von Pfeifferschen Bazillen im Sputum von Influenzakranken in 61 Proz. unter 165 Untersuchten, in pneumonischen Herden in 65 Proz. unter 17 Fällen. Die gleichartige und gleichzeitige Untersuchung von 196 Nichtinfluenzakranken (Diphtherie, Scharlach, Phthisis, Nephritis) ergab im Sputum bei 25 Proz. Pfeiffersche Bazillen; unter 30 Gesunden wurden sie bei 13 Proz. gefunden. Diese Prozentzahl wurde in epidemiefreier Zeit bedeutend geringer.

2) Bei der Impfung von Mäusen mit 0,5—5,0 mg Reinkultur entsteht tödliche Bakteriämie. Die Stämme weisen sehr verschiedene Virulenz auf, aber nicht gemäß ihrer Herkunft von Influenza- oder Nichtinfluenzakranken.

3) Die bei der menschlichen Influenza häufig beobachteten Blutungen treten auch bei Mäusen nach Einimpfung der Pfeifferschen Bazillen an der Injektionsstelle, sowie besonders auch in Milz und Lungen auf. Doch war dieses pathologische Bild nicht pathognomisch für Pfeiffersche Bazillen, sondern auch bei Verimpfung von B. coli, Paratyphus und Milzbrandbazillen habe ich Lungenblutungen beobachtet, bei Verimpfung von Pneumobazillen, B. coli und Milzbrandbazillen Milzblutungen. Ebenso unspezifisch erwies sich die Verminderung der polynukleären Leukozyten nach Levy. Nach Verimpfung von Pfeifferschen Bazillen auf Affen und Kaninchen habe ich Verminderung der Leukozyten um 20—80 Proz. beobachtet. Diese Erscheinung trat auch bei Typhusbazillen und katarrhalischen Diplokokken auf, wahrend bei Verimpfung von Staphylokokken

1) Schöppler, München. med. Wochenchr. 1918. Nr. 32.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Ruhrbazillen eine Vermehrung um 25 Proz. zustande kam. Injiziert man Kaninchen subdural täglich 3mal je $^1/_2$ Oese, so treten Lähmungserscheinungen am Bein auf, wie bei der menschlichen Influenza.

4) Präzipitationsversuche mit Pfeifferschen Bazillen und Tierimmunseris fielen meistens deutlich positiv aus; dagegen waren 31 Krankensera fast alle negativ; ganz schwach positiv reagierten 7, und von den Seren 20 Nichtinfluenzakranker reagierten gleichfalls 4 Fälle ganz schwach positiv.

5) Agglutinationsversuche mit Kaninchen- und Meerschweinchenimmunseris ergaben ein positives Resultat in Verdünnungen bis zu 1:200, mit Pferdeseris bis zu 1:2000; von 32 Influenza-Krankensera waren 87 Proz. positiv, von 17 Nichtinfluenzakrankenseris 29 Proz.

6) Komplementbindungsversuche waren nur mit Pferdeimmunsera positiv, bei anderen Tieren und bei 26 Influenzakrankensera aber negativ. Bakteriolysenversuche waren negativ. Opsoninindex von 20 Influenzakranken und 5 Nichtinfluenzakrankensera war 1,2; Tropinversuche waren ganz negativ. Meiostagminreaktion von 5 Influenza- und 3 Nichtinfluenzakrankensera war negativ, von Pferdeimmunserum schwach positiv.

7) Tiefe Auspinselung des Rachens mit Pfeifferschen Bazillen an 4 Menschen hatte nur bei 1 nach 2 Tagen ein Fieber von 38,2° ohne Gelenkschmerzen zur Folge. Subkutaninjektion von Pfeifferschen Bazillen bei 3 Menschen rief keine pathologischen Veränderungen hervor.

9) Inhalation von ganz frischem, durch Berkefeld-Filter filtriertem Sputum ergab bei 8 Versuchspersonen kein Resultat. Bei subkutaner Injektion des Filtrats auf 5 weitere Menschen zeigte sich bei allen 5 Fieber von 37,8°—37,5°; bei einem anderen Menschen, der vorher an Influenza gelitten hatte, blieb das Fieber aus. Zur Kontrolle habe ich in gleicher Weise das Filtrat von phthisischem Sputum mit und ohne Pfeiffersche Bazillen bei 2 Menschen injiziert, doch zeigte sich kein Fieber. Versuche bei Affen und anderen Tieren hatten keinen Erfolg.

Nachdruck verboten.

Weitere Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Keim- und Körperzellgehalt aseptisch gewonnener Einzelviertelmilchen aus gesunden Kuheutern.

[Aus der Schweiz. milchwirtschaftl. u. bakteriol. Anstalt Bern-Liebefeld (Vorstand: Prof. Dr. R. Burri).]

Von Dr. med. vet. **Werner Steck.**

Mit 4 Kurven im Text.

Seit den grundlegenden Untersuchungen von Ward (1) über den Keimgehalt gesunder, geschlachteter Kuheuter hat sich die Erkenntnis

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

allmählich Eingang verschafft, daß die Milch nicht steril aus dem Euterinnern fließt, sondern Bakterien in wechselnder Menge mit sich führt, durchschnittlich etwa 500 pro Kubikzentimeter. Im Gegensatz zu der vorherrschenden Anschauung, wonach diese Bakterien nichts als eine „Verunreinigung" der Milch im Zitzenkanal oder in den distalen Teilen Milchzysterne darstellen, machten verschiedene Autoren, namentlich Löhnis (2), Alice C. Evans (3) und Burri und Hohl (4) auf die eigentümliche Zusammensetzung der sog. „Euterflora" aufmerksam, die sozusagen ausschließlich pathogene und pathogenen Formen nahestehende Organismen enthält. Diese Erscheinung fand eine Erklärung in meiner Feststellung (5), daß es sich bei der „bakteriellen Besiedelung klinisch gesunder Kuheuter" um eine richtige Infektion, um eine bakterielle Entzündung handelt, die sich von einer klinisch wahrnehmbaren Mastitis nur graduell unterscheidet. Um ihre Beziehungen zu der bekannten Reihe perakuter, akuter, subakuter und chronischer Infektionen bzw. Entzündungszustände zu charakterisieren, habe ich sie „hyperchronische Infektion" genannt. Es sollte damit ein ähnlicher Zustand bezeichnet werden, wie er gelegentlich unter dem Namen „latente Infektion" geht, zugleich aber berücksichtigt, daß auch jene Infektion aufhört latent zu sein, wenn wir sie mit geeigneten Hilfsmitteln beobachten und daß sie sich nur graduell von den klinisch wahrnehmbaren unterscheidet.

Die geschilderte Auffassung der Infektion des klinisch gesunden Kuheuters stützte sich auf die Beobachtung des Ueberganges von normaler zu klinisch erfaßbarer Entzündung bei augenscheinlich nur quantitativen Veränderungen der Euterflora, auf den Nachweis einer Korrelation zwischen Bakterizidievermögen und Keimzahl und zwischen Körperzell- und Keimzahl aseptisch gewonnener Einzelviertelmilchen. In die gleiche Richtung weist der oft recht ausgesprochene Zusammenhang zwischen Keimzahl und chemischer Beschaffenheit aseptisch ermolkener Milch aus gesunden Eutern (Koestler, Radosavlevicz und Steck (6).

Unter den erwähnten Korrelationen ist die zwischen Keim- und Zellzahl am leichtesten und sichersten faßbar und zahlenmäßig feststellbar, weil die Zellzahl in normalen Milchen innerhalb ziemlich weiter Grenzen schwankt und so die größten Ausschläge gibt. Es sind darum in dieser Richtung zur Ergänzung und Nachprüfung der früher mitgeteilten Befunde weitere Untersuchungen ausgeführt worden. Ihre Veröffentlichung schien jetzt angezeigt, weil die Arbeiten aus äußeren Gründen für einige Jahre unterbrochen werden müssen.

Die Technik bestand einmal in der aseptischen Entnahme von kleinen Einzelviertelmilchproben (ca. 10—20 ccm) in sterile Reagenzgläser, wobei einzig die Zitzenkuppe mit alkoholgetränktem und trockenem, sterilem Wattebausch gereinigt wurde. Als Kontrolle für die Wirksamkeit dieses einfachen Verfahrens dienen die „keimarmen Viertel", aus denen auf diese Art und Weise andauernd Milchen mit sehr geringem Keimgehalt erhalten wurden.

Zur Feststellung von Zahl und Morphologie der im Sekret enthaltenen Keime wurden ca. innerhalb einer Stunde nach der Entnahme mit Hilfe graduierter Pipetten exakte Verdünnungen in Dextroseagar (für Hoheschichtkulturen bei 38° C) und Peptonschottengelatine (für Plattenkulturen bei 20° C) angelegt. Bei der Aufarbeitung der Kulturen wurde in erster Linie die Hoheschicht-Kultur berücksichtigt,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weil sie zufälligen Verunreinigungen wenig ausgesetzt ist und für die fakultativ anaëroben Euterorganismen in bezug auf Sauerstoffgehalt ein elektives Milieu darstellt. Die selten beobachteten Verunreinigungen pflegten sich namentlich an und unterhalb der Oberfläche zu zeigen, ohne die Feststellung der Menge von fakultativ anaëroben und konstant festgestellten Euterbakterien wesentlich zu beeinträchtigen. Die Plattenkulturen dienten der Ergänzung und Kontrolle. Durch Mikroskopieren von 5—20 Kolonien aus jeder Probe wurde die Zugehörigkeit zu verschiedenen Bakteriengruppen geprüft. Nur in einem besonderen, weiter unten geschilderten Fall, sind isolierte Stämme einer kulturellen Untersuchung unterworfen worden.

Die Bestimmung der Zellzahl geschah nach der Methode von Prescott und Breed (7), indem das ganze, gut durchgemischte Sekret verwendet wurde.

Eine bestimmte Menge wurde mit Hilfe einer kalibrierten Platinöse auf einem kreisrunden Feld bestimmter Größe verteilt, getrocknet, nach kurzer Behandlung mit Xylol in 96-proz. Alkohol fixiert und mit Löfflerschem Methylenblau gefärbt. In zwei oder, bei Differenz der Werte um mehr als 10 Proz., drei derartigen Ausstrichen, wurden je 100 Gesichtsfelder bestimmter Größe ausgezählt und die Zellzahl aus den verschiedenen Ziffern errechnet.

Ursprünglich bestand die Absicht, nur Leukozyten und Lymphozyten, nicht aber Epithelzellen zu zählen. Dies erschien jedoch für die Zählung einer größeren Menge von Zellen zu umständlich und zeitraubend, so daß ich mich darauf beschränkte, polygonale Zellen von ausgesprochen epithelialem Habitus, einzeln oder in Verbänden, ferner sog. Siegelringformen, herstammend von einer mit Fett gefüllten Zelle, sowie Zell- und Kerntrümmer, auszuschließen. Bei allein wesentlichen Zellzahlerhöhungen herrschten übrigens die polymorphkernigen Leukozyten stark vor.

Die Breed-Ausstriche wurden ca. 2 Stunden nach der Entnahme angefertigt.

Bei der Auswahl der Versuchskühe achtete ich auf klinisch normale Euter mit ungleichartiger bakterieller Besiedelung der vier Viertel. Indem durch Vergleich der verschiedenen Einzelviertelsekrete der Einfluß von Zahl und Art der anwesenden Keime am besten ermessen werden kann.

Ueber die Vorgeschichte der Tiere orientieren uns die von der Zentralverwaltung der hiesigen Versuchsanstalt gütigst zur Verfügung gestellten Zuchtbuchnotizen.

Alle drei Kühe gehören der Simmentaler Rasse an. „Falbe“ wurde am 11. Febr. 1915 geworfen und im Versuchsstall aufgezogen. Sie hatte normal gekalbt am 5. Nov. 1918, 5. Nov. 1919, verworfen am 28. Juni 1920 und kalbte wiederum normal am 26. Juli 1921.

„Züsi“ kam im Juni 1914 als Kalb in den Bestand und kalbte normal am 5. Mai 1917, 28. März 1918, 13. März 1920, 12. Febr. 1921. Sie litt nach diesem letzten Kalben an Endometritis chronica purulenta.

„Lidy“ wurde etwa 1917 geworfen, kam im Febr. 1921 in den Bestand und kalbte normal am 26. Dez. 1921.

Kuh „Falbe“ wies stets ein kompakt gebautes, leistungsfähiges Euter auf, das nach eigener Erfahrung und den Angaben des Stallpersonals nie krankhafte Erscheinungen zeigte. Die bakteriologische Beschaffenheit der vier Einzelviertelproben bot seit der ersten Untersuchung vom 4 .März 1919 stets das gleiche Bild: Hunderte bis Tausende von typischen, fakultativ anaëroben Mikrokokken (sog. „Euterkokken“) pro Kubikzentimeter aseptisch gewonnener Milch (1. Gemelk-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 1.

Trockenstellen der Kuh „Falbe“ 1921. Keim- (Mikrokokken) und Zellzahlen aseptisch gewonnener Einzelviertelmilchproben aus erster und letzter Gemelkfraktion (d. h. Anfang und Ende des Melkaktes). (Fettgedruckt: Zellzahlen pro Kubik**millimeter,** normaler Druck: Keimzellen pro Kubikzentimeter.

Entnahme	Rechtes Bauchviertel		Rechtes Schenkelviertel		Linkes Bauchviertel		Linkes Schenkelviertel		$^1/_4$-Milchmenge			
	1. Frakt.[1])	letzte Frakt.[2])	1. Frakt.	letzte Frakt.	1. Frakt.	letzte Frakt.	1. Frakt.	letzte Frakt.	Datum	Morg.	Abd.	Total
31. Jan. abends	4	6	1720	840	4	16	< 2	36	30. Jan.	3,6	2,9	6,5
	72	**40**	**492**	**956**	**78**	**58**	**108**	**68**	31. „	3,5	2,9	6,4
4. Febr. morg.	< 2	4	3840	1 040	< 2	4	< 2	< 3	2. Febr.	3,6	3,0	6,6
	30	**32**	**428**	**1 368**	**52**	**80**	**38**	**32**	3. „	3,7	2,9	6.6
									4. „	3,4	3,3	6,7
6. Juni abends	102	8	3320	4 000	2	6	< 2	180	1. Juni	2,9	2,8	5,7
	10	**30**	**990**	**2 911**	**36**	**4**	**82**	**8**	2. „	2,5	2,5	5,0
									3. „	2,9	2,8	5,7
7. Juni abends	.	< 2	.	3 360	.	< 2	.	< 2	4. „	3,0	2,6	5,6
	.	**2**	.	**1 148**	.	**14**	.	**6**	5. „	2,8	2,6	5,4
9. Juni morg.	.	< 2	.	3 000	.	2	.	52	6. „	2,3	1,4	3,7
	.	**16**	.	**11 400**	.	**158**	.	**11**	7. „	—	3,7	3,7
									8. „	—	—	—
11. Juni morg.	.	< 2	.	274	.	< 2	.	< 2	9. „	4,2	—	4,2
	.	**11**	.	**6 267**	.	**32**	.	**82**	10. „	—	—	—
18. Juni morg.	.	< 2	.	102	.	< 2	.	2	11. „	3,6	—	3,6
	. .	**22 160**	. .	**37 990**	.	**16 825**	.	**18 970**	12.-17.„	—	—	—
									18. „	1,7	—	1,7

fraktion) aus dem rechten Schenkelviertel und geringe Keimmengen, schwankend von weniger als 2 (d. h. in $^1/_2$ ccm keine Keime) bis 100 pro Kubikzentimeter in den Sekreten der drei übrigen Viertel. Entsprechende Zellzahlen, d. h. Hunderttausende bis über 1 Million pro Kubikzentimeter im Sekret des rechten Schenkelviertels, dagegen nur 6000—68 000 in denen der 3 übrigen, „keimarmen“ Viertel, ergab die Untersuchung von 2×14 Einzelviertelproben im Februar 1920, sowie Januar und Februar 1921 (die beiden letztgenannten Erhebungen sind in Tab. 1 wiederum aufgeführt).

Der durchschnittliche Keimgehalt in hoher Schichtkultur[3]) von 4×15 Einzelviertelproben vom März 1919 bis Februar 1921 beträgt:

im	rechten	Bauchviertelsekret	16	pro	Kubikzentimeter
„	„	Schenkelviertelsekret	4618	„	„
„	linken	Bauchviertelsekret	12	„	„
„	„	Schenkelviertelsekret	19	„	„

Der durchschnittliche Zellgehalt von 4×6 Einzelviertelproben vom Februar 1920 bis Februar 1921 ist:

1) 1. Frakt. = die nach 12 vorgemolkenen Zügen erhaltene Milch.
2) Letzte Frakt. = Milch aus dem Ende des Melkaktes.
3) Zugleich der maximale Keimgehalt, indem die Plattenkulturen, abgesehen von gelegentlichen inkonstant auftretenden Verunreinigungen, keine anderen Keime zur Entwicklung brachten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

im rechten	Bauchviertelsekret	34 000	pro	Kubikzentimeter
„ „	Schenkelviertelsekret	818 000	„	„
„ linken	Bauchviertelsekret	50 000	„	„
„ „	Schenkelviertelsekret	44 000	„	„

Wie eingangs angedeutet wurde, lassen sich in Fällen mit derart ausgesprochenem Unterschied in der bakteriellen Besiedelung der vier Viertel oft sogar mit Hilfe der chemisch-analytischen Milchuntersuchung Unterschiede zwischen den in erheblicherem Maße infizierten und den wenig infizierten Einzelviertelsekreten feststellen. So fand Herr Dr. Köstler (7) am 12. Sept. 1919 kurz vor dem Trockenstellen unter anderem die folgenden Werte:

	im rechten Bauchviertelsekret	im rechten Schenkelviertelsekret	im linken Bauchviertelsekret	im linken Schenkelviertelsekret
Milchzucker (Proz.)	4,97	4,86	4,90	4,93
Säuregrad	9,0	8,8	8,8	9,0
Labprobe (Gerinn.-Dauer in Min. u. Sek.)	14′ 43″	15′ 03″	14′ 18″	14′ 57″
Fettfreie Trockensubstanz (Proz.)	9,14	9,38	9,12	9,25
Fett- u. zuckerfreie Trockenmasse (Proz.)	4,27	4,52	4,23	4,32
Geschmack	in keinem der ¼ merklich rässalzig.			

Der geringere Zuckergehalt, die größere Menge zucker- und fettfreier Trockenmasse, die verzögerte Labung deuten übereinstimmend auf eine leichte Veränderung des Sekretes aus dem keimreicheren Viertel hin, und zwar in der Richtung des Mastitissekretes. Aber nur relativ zu den keimarmen Vierteln; absolut genommen bewegen sich die Werte durchaus innerhalb normaler Grenzen, ebenso wie die vorher erwähnten Keim- und Zellzahlen. Die Geschmacksprüfung gab selbst dem darin sehr erfahrenen Milchchemiker ein negatives Resultat. Es handelt sich also wirklich, wie noch einmal nachdrücklich hervorgehoben sei, um ein klinisch gesundes Euter, wie es ähnlich bei der Großzahl unserer gesunden Tiere angetroffen wird.

Die Beobachtung des Trockenstellens 1921 (Tab. 1) erwies ein den früheren Ergebnissen entsprechendes Verhalten. Wie vorher, kopierten die Plattenkulturen das Bild der hohe Schichtkulturen mit Ausnahme von wenigen Kolonien, die durch ihre Inkonstanz und Verschiedenartigkeit sowohl, wie durch meist üppiges obligat aërobes Wachstum deutlich als Verunreinigungen charakterisiert waren. Es sind daher in der Tabelle nur die Werte der Hoheschichtkultur aufgeführt.

In den drei keimarmen Vierteln ist die Zellzahl nach Aussehen von sukzessive 1, 2 und 3 Melkakten nicht wesentlich gestiegen, im „mäßig keimreichen" rechten Schenkelviertel dagegen auf das 2- bis 4fache der vorher beobachteten höchsten Zellzahl, von 2 911 000 pro Kubikzentimeter auf 11 400 000 bzw. 6 267 000.

Dies ändert sich vollständig nach dem Aussetzen von 13 aufeinanderfolgenden Melkakten. Die drei keimarmen Sekrete haben mit 17—22 Millionen Zellen pro Kubikzentimeter annähernd das Niveau des keimreicheren Viertels (38 Millionen Zellen) erreicht.

Dabei bestand in allen 4 Vierteln die große Mehrzahl aller gezählten Zellen aus polymorphkernigen Leukozyten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die angeführten Daten sind ein weiteres Beispiel für das schon früher erwähnte typische Verhalten ungleichmäßig infizierter Nachbarviertel während dem Trockenstellen, wobei der Unterschied im Verhalten von keimreichen und keimarmen Vierteln zunächst verschärft wird, um erst gegen Ende des Trockenstellens durch die in den keimarmen Vierteln später einsetzende Zellzahlsteigerung ausgeglichen zu werden.

Die nach jeder Probeentnahme am entleerten Euter vorgenommene Palpation ergab bis und mit dem 11. Juni durchaus normale, elastische Beschaffenheit, ohne irgendwelche Verhärtungen. Am 18. Juni morgens. d. h. nach der letzten Sekretentnahme, ließ eine sorgfältige vergleichsweise Palpation der vier Viertel eine geringe, aber deutliche Konsistenzerhöhung und Volumenvermehrung im ganzen Umfang des rechten Schenkelviertels nachweisen. Zwei Melker, denen die Ergebnisse meiner Untersuchungen nicht bekannt waren, nannten auf die Frage, welches Viertel am konsistentesten sei, nachweisbar unabhängig voneinander das gleiche rechte Schenkelviertel. Ein Bakteriologe, welcher früher nie Euter untersucht hatte, konnte dagegen keinen Unterschied feststellen.

Da bekanntlich beim Ergalten die Milchmengen in den verschiedenen Vierteln ungleich rasch zurückgehen, konnte man geneigt sein, die ungleiche Beschaffenheit der vier Viertel auf ungleich fortgeschrittene Atrophie zurückzuführen. Dem widerspricht aber, daß die damals (18. Juni) in einen vierteiligen Melkeimer gemolkenen Sekretmengen in den beiden Bauch- und dem rechten Schenkelviertel ungefähr gleich waren, im linken Schenkelviertel dagegen doppelt so groß. Entsprechend erschien bei der Besichtigung des Euters vor dem Melken das linke Schenkelviertel größer als jedes der drei andern. Die geringe Sekretmenge im rechten Schenkelviertel, welches in der Regel am leistungsfähigsten ist, stellt möglicherweise auch eine Folge der Infektion dar.

Wenn es sich bei der beobachteten Konsistenzvermehrung im rechten Schenkelviertel auch um eine äußerst geringfügige Veränderung handelt, welche bei der üblichen klinischen Beurteilung höchstens als eine bedeutungslose physiologische Variation aufgefaßt würde, so erscheint es nach dieser bis dahin vereinzelt dastehenden Beobachtung doch nicht unmöglich, unter besonderen Umständen die Folgen selbst einer ganz harmlosen Euterbesiedelung am Euter selbst festzustellen [1]).

Die Konsistenzveränderung wurde später undeutlich und war nach einer Woche nicht mehr nachweisbar. Ob sie tatsächlich verschwunden war, oder ob nur der Uebertritt von Sekret in die nicht mehr entleerten Hohlräume den Nachweis verhinderte, ist nicht mit Sicherheit anzugeben.

* * *

Die Untersuchungen an der Kuh Züsi sollten einen besonderen Punkt beleuchten, welcher für den Nachweis der Korrelation zwischen Keim- und Zellzahl von Bedeutung ist.

In Fällen mit so gleichförmigem Verhalten der Einzelviertelmilchen, wie es bei Kuh Falbe und früher ähnlich bei den Kühen Angora, Flora, Laura, Tulipa, Vion Alma, Gäbel, sowie nach dem bakteriologischen Verhalten allein zu schließen, auch bei Bella, Giri, Pfau und anderen

1) Histologische Untersuchungen, denen in der Frage zweifellos das letzte Wort zukommt, sind geplant, aber äußerer Umstände halber noch nicht zur Ausführung gekommen.

Generated on 2019-09-16 14:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

vorliegt, gibt schon eine einzige Entnahme von 4 Einzelviertelgemelken oder doch wenigstens eine geringe Zahl nicht aufeinanderfolgender Entnahmen über das Bestehen der genannten Korrelation hinreichenden Aufschluß (5).

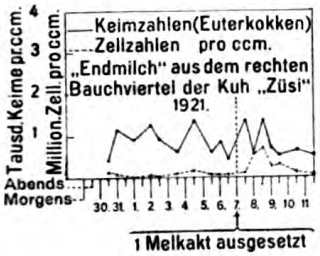


Fig. 2.

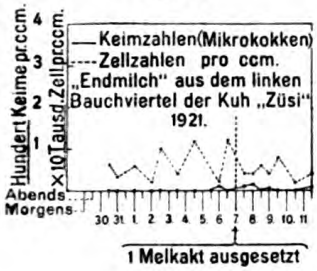


Fig. 3.

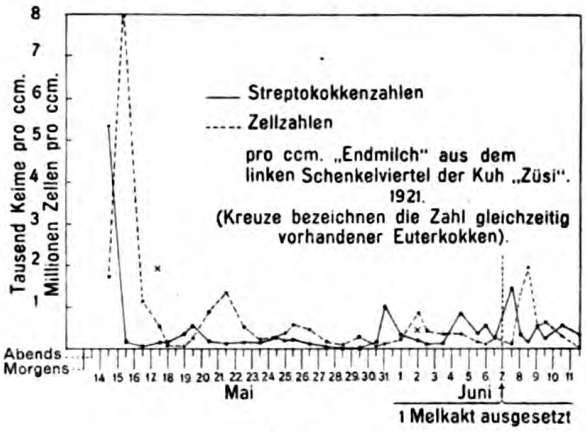


Fig. 1.

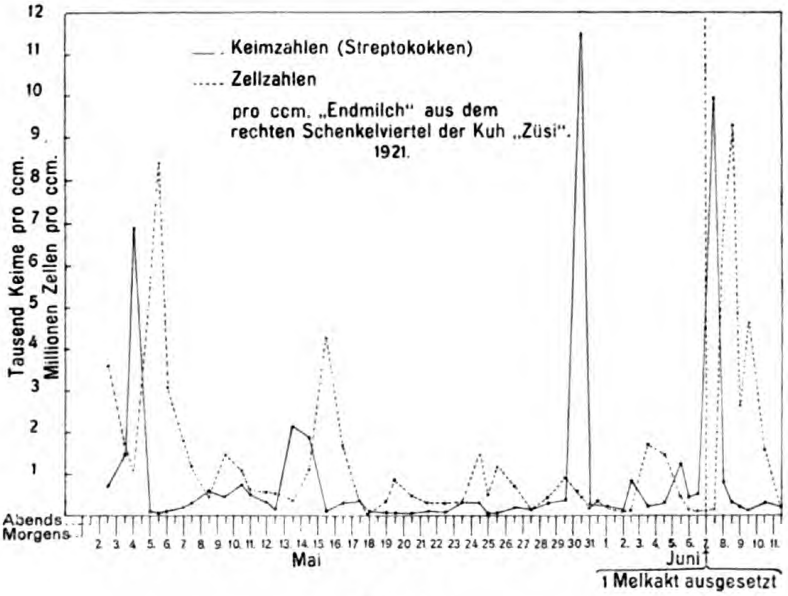


Fig. 4.

Anders ist es sehr oft bei klinisch gesunden Streptokokkenvierteln, wo bedeutendere Keimzahlschwankungen vorkommen können. Wie ich schon früher (5) betonte, müssen hier wegen des Nachsinkens der Zellzahlsteigerung bei heftigen Keimzahlschwankungen die Milchen von mehreren aufeinanderfolgenden Melkzeiten untersucht werden. Die in der Literatur so häufig wiederkehrende Zusammenstellung der Werte

Generated on 2019-09-16 14:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

von einzelnen Entnahmen kann in diesem Fall zu groben Irrtümern führen, wie aus den Tabellen 3—5 und Fig. 1—4 dargestellten Erhebungen bei Kuh Züsi leicht zu ersehen ist.

Kuh Züsi erschien als Versuchsobjekt besonders geeignet, da zur Zeit der Untersuchung neben zwei Streptokokkenvierteln ein von Mikrokokken besiedeltes und ein keimarmes vorhanden waren. Die Kuh stand seit Juli 1918 unter meiner Beobachtung. Ueber die Vorgeschichte orientiert die schematische Zusammenstellung in Tabelle 2. Bezüglich weiterer, hier weniger wichtiger Einzelheiten, sei auf die frühere Arbeit (5) verwiesen.

In den hier geschilderten Untersuchungen sind mindestens täglich, zu Beginn erste und letzte Gemelkfraktion der aseptisch gewonnenen Milch aus dem rechten Schenkelviertel verarbeitet worden. Die Befunde an der ersten Fraktion erschienen aber bald entbehrlich und an ihrer Stelle wurde das Sekret aus dem ebenfalls von Streptokokken

Tabelle 2.

Schematische Zusammenfassung der Ergebnisse früherer bakteriologischer Untersuchungen von Einzelviertelmilchen der Kuh „Züsi".

Zeichenerklärung: + weniger als 100 Streptokokken, +++ mehr als 100 Streptokokken, — weniger als 100 andere Keime, × zwischen 100 und 200 Mikrokokken, ××× mehr als 200 Mikrokokken.

Entnahme	Rechtes Bauchviertel	Rechtes Schenkelviertel	Linkes Bauchviertel	Linkes Schenkelviertel		
9. Juli 1918	—	—	—	×××		
10. „ „	—	—	—	×××		
7. Jan. 1919	—	—	—	×××		
20. „ „	×	—	—	×××	Trockenstellen	Laktationsperiode A
21. „ „	×	—	×	×××		
22. „ „	—	—	—	×××		
24. „ „	—	—	—	×××		
25. „ „	—	—	—	×××		
27. „ „	—	—	—	×××		
7. Febr. „	—	—	—	×××		
14. März 1919	—	—	—	×××		
24. „ „	—	—	—	×××		
5. Apr. „	—	—	—	+++		
25. „ „	—	—	—	+++		
24. Mai „	—	—	—	+++		
2. Juni „	—	—	—	+++		
3. Juli „	—	—	—	+++		
8. „ „	—	—	—	+++		
30. „ „	—	—	—	+++		
7. Okt. „	×××	—	—	+++		Laktationsperiode B
19. Nov. „	×××	—	—	+++		
18. Dez. „	×××	—	·	—		
4. Jan. 1920	×××	—	—	+++		
15. „ „	×××	—	—	+++		
16. „ „	×××	—	—	+++	Trockenstellen	
17. „ „	×××	—	—	+		
19. „ „	×××	—	—	+		
26. „ „	×	—	—	—		
26. Nov. 1920	×××	+++	×××	+++		Laktationsperiode C
19. Febr. 1921	×××	+++	—	+++		
4. März „	×××	+++	—	+++		Laktationsperiode D
17. „ „	×××	+++	—	+++		
23. „ „	×××	+	—	+++		

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

besiedelten linken Schenkelviertel (letzte Gemelkfraktion) verarbeitet. In der der künstlichen Milchstauung vorangehenden und folgenden Periode habe ich das Mikrokokken führende Sekret aus dem rechten und das keimarme aus dem linken Schenkelviertel als Kontrollen in das Experiment einbezogen.

Tabelle 3.

Keim und Zellzahlen pro Kubikzentimeter aseptisch gewonnener „Anfangs"- und „Endmilch" aus dem rechten Schenkelviertel der Kuh „Züsi" 1921. (Sr = Streptokokken, Ek = typische Euterkokken, K = beliebige Mikrokokken.)

Entnahme	Anfangsmilch 1. Gemelkfraktion	Endmilch letzte Gemelkfraktion	¼ Milchmenge (kg)			Befund am Euter
			Morg.	Abds.	Total	
2. Mai abds.	2000 Sr **512 000**	720 Sr **3 663 000**	5,6	5,4	11,0	normal, weichelastisch
3. „ „	3600 Sr **244 000**	1480 Sr **1 724 000**	5,9	5,5	11,4	„ „
4. „ morg.	5880 Sr **288 000**	6960 Sr **1 106 000**	5,4	6,3	11,7	„ „
5. „ „	1120 Sr **1 358 000**	84 Sr **5 591 000**	5,4	.	.	„ „
5. „ abds.	706 Sr **1 020 000**	72 Sr **8 425 000**	.	6,4	11,8	„ „
6. „ morg.	920 Sr **424 000**	122 Sr **3 165 000**	5,2	6,7	11,9	„ „
7. „ „	960 Sr **304 000**	258 Sr **1 802 000**	5,5	.	.	„ „
7. „ abds.	974 Sr **56 000**	336 Sr **1 226 000**	.	6,0	11,5	„ „
8. „ „	844 Sr **164 000**	598 Sr **444 000**	6,2	5,2	11,4	„ „
9. „ „	1800 Sr **140 000**	416 Sr **1 484 000**	6,3	6,5	12,8	„ „
10. „ „	3240 Sr **200 000**	764 Sr **1 092 000**	6,0	5,2	11,2	„ „
11. „ morg.	4320 Sr **396 000**	488 Sr **576 000**	5,0	7,1	12,1	„ „
12. „ „	1040 Sr **186 000**	330 Sr **650 000**	4,8	.	.	„ „
12. „ abds.	252 Sr **318 000**	146 Sr **650 000**	.	6,2	11,0	Brunst mit Zurückhalten eines Quantums Milch im Euter } Befund am Euter normal
13. „ „	1600 Sr **156 000**	2160 Sr **328 000**	6,2	5,1	11,3	

Die Ergebnisse (Tab. 3—5) lassen sich an Hand der graphischen Darstellung in Fig. 1—4 am besten übersehen. Es sei hier gleich auf den veränderten Maßstab der Fig. 3 aufmerksam gemacht, der durch die geringen Keim- und Zellzahlen notwendig wurde. Die wesentlichsten Befunde sind kurz folgende:

1) Die drei Typen der Besiedelung erscheinen in bezug auf die Zellzahl der betr. Sekrete scharf charakterisiert. Die Streptokokkenviertelsekrete zeichnen sich durch das bedeutende Schwanken ihrer Zellzahlen aus. Keimarmes und Mikrokokkensekret zeigen dagegen geringere Schwankungen der Zellmenge, wobei die mittlere Zellzahl des Mikrokokkenviertels erheblich geringer ist als die der Streptokokkenviertel, und die des keimarmen wiederum erheblich kleiner als die des Mikrokokkenviertels, in Uebereinstimmung mit früheren Beobachtungen an anderen Kühen (5).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 4.

Keim und Zellzahlen pro Kubikzentimeter aseptisch gewonnener „Endmilch" der Kuh „Züsi" 1921. (Sr = Streptokokken, Ek = typische Euterkokken, K = beliebige Mikrokokken.)

Entnahme	Rechtes Bauchviertel	Rechtes Schenkelviertel	Linkes Bauchviertel	Linkes Schenkelviertel	¼ Milchmenge (kg)			Euter
					Morg.	Abds.	Total	
14. Mai abds.	.	1880 Sr **1 140 000**	.	5360 Sr **1 712 000**	6,5	5,6	12,1	normal weich-elastisch
15. „ „	.	134 Sr **4 254 000**	.	154 Sr **7 956 000**	6,3	5,7	12,0	dgl.
16. „ „	.	316 Sr **164 000**	.	32 Sr **1 168 000**	6,2	5,8	12,0	„
17. „ „	.	254 Sr **400 000**	.	160Sr+1920Ek **504 000**	5,8	5,5	11,3	„
18. „ morg.	.	122 Sr **64 000**	.	172 Sr **100 000**	5,9	6,4	12,3	„
19. „ „	.	110 Sr **340 000**	.	350 Sr + 38 Ek **44 000**	5,9	.	.	„
19. „ abds.	.	90 Sr **836 000**	.	534 Sr **244 000**	.	5,7	11,6	„
20. „ „	.	60 Sr **428 000**	.	184 Sr **932 000**	6,0	6,4	12,4	„
21. „ „	.	166 Sr **326 000**	.	160 Sr **1 340 000**	5,7	5,7	11,4	„
22. „ „	.	104 Sr **296 000**	.	158 Sr **520 000**	5,9	4,9	10,8	„
23. „ „	.	388 Sr **310 000**	.	140 Sr **208 000**	4,5	5,2	9,7	„
24. „ „	.	348 Sr **1 358 000**	.	290 Sr **292 000**	5,3	5,8	11,1	„
25. „ morg.	.	58 Sr **524 000**	.	188 Sr **338 000**	5,9	.	.	„
25. „ abds.	.	50 Sr **1 174 000**	.	232 Sr **482 000**	.	5,0	10,9	„
26. „ „	.	226 Sr **746 000**	.	120 Sr **424 000**	6,0	4,2	10,2	„
27. „ „	.	186 Sr **194 000**	.	38 Sr **144 000**	5,1	4,4	9,5	„
28. „ „	.	280 Sr **486 000**	.	16 Sr **60 000**	5,1	4,5	9,6	„

2) Im Mikrokokken- und keimarmen Sekret treten die geringen Schwankungen der Keimzahl in Form eines anscheinend regellosen Zitterns um den Mittelwert auf, welches mit den noch geringeren Schwankungen der Zellzahl keine Beziehungen verrät. In den Streptokokkenvierteln dagegen lassen die stetigeren, oft bedeutenden und mehrere Melkakte umfassenden Steigerungen der Keimzahl mit einer Ausnahme eine deutliche Beziehung zu einer um 12—24 Std. nachhinkenden Zellzahlsteigerung erkennen. Die Ausnahme betrifft den Befund vom 30. Mai abends, wo eine einzige Entnahme ganz unvermittelt einen sehr hohen Streptokokkengehalt im Sekret des rechten Schenkelviertels aufweist. Da hohe Schicht- und Plattenkulturen übereinstimmten und ein technisches Versehen so gut wie ausgeschlossen scheint, ist eine Erklärung nicht ohne weiteres möglich. Immerhin läßt sich denken, daß unter Umständen ein größerer Verband der im Euterkanalsystem angesiedelten Streptokokken abgelöst und mit

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 5.

(Keim- und Zellzahlen pro Kubikzentimeter aseptisch gewonnener „Endmilch" der Kuh „Züsi" 1921.) Fortsetzung.

Entnahme	Rechtes Bauchviertel	Rechtes Schenkelviertel	Linkes Bauchviertel	Linkes Schenkelviertel	¼ Milchmenge (kg) Morg.	Abds.	Total	Euter
29. Mai abds.	.	304 Sr **906 000**	.	18 Sr **216 000**	5,2	4,8	10,0	normal, weichelastisch
30. „ „	406 Ek **138 000**	11 520 Sr **404 000**	< 2 **6 000**	103 Sr **77 000**	4,8	4,4	9,2	dgl.
31. „ morg.	1160 Ek **60 000**	210 Sr **160 000**	< 2 **4 000**	1000 Sr **116 000**	5,2	.	.	„
31. „ abds.	.	 **304 000**	.	.	.	4,2	9,4	„
1. Juni morg.	920 Ek **28 000**	202 Sr **202 000**	< 2 **6 000**	332 Sr **234 000**	5,0	5,3	10,3	„
2. „ „	1280 Ek **40 000**	170 Sr **116 000**	< 2 **2 000**	200 Sr + 440 Ek **846 000**	3,8	.	.	„
2. „ abds.	906 Ek **20 000**	840 Sr **156 000**	< 2 **10 000**	90 Sr **416 000**	.	4,5	8,3	„
3. „ „	602 Ek **92 000**	264 Sr **1 696 000**	2 **4 000**	138 Sr **350 000**	6,1	4,7	10,8	„
4. „ „	1360 Ek **136 000**	302 Sr **1 454 000**	< 2 **12 000**	878 Sr **312 000**	5,2	4,6	9,8	Brunst, seit dem Morgen ohne Zurückhalten von Milch
5. „ „	616 Ek **40 000**	1 240 Sr **444 000**	< 2 **6 000**	342 Sr **198 000**	5,0	4,5	9,5	normal, weichelastisch
6. „ morg.	850 Ek **46 000**	440 Sr **162 000**	10 K **2 000**	548 Sr **148 000**	4,7	.	.	dgl.
6. „ abds.	416 Ek **60 000**	520 Sr **84 000**	< 2 **12 000**	222 Sr **292 000**	.	3,5	8,2	„
	1 Melkakt willkürlich ausgesetzt. Stauung in allen ¼				.	.	.	„
7. „ „	1320 Ek **148 000**	9960 Sr **172 000**	12 K **4 000**	1440 Sr **96 000**	—	8,6	8,6	„
8. „ morg.	520 Ek **576 000**	794 Sr **6 867 000**	14 K **4 000**	320 Sr + 1120 Ek **1 334 000**	4,3	.	.	„
8. „ abds.	1360 Ek **752 000**	242 Sr **9 318 000**	2 **6 000**	114 Sr **1 920 000**	.	4,2	8,5	„
9. „ morg.	694 Ek **270 000**	218 Sr **2 654 000**	6 **4 000**	604 Sr **600 000**	4,3	.	.	„
9. „ abds.	576 Ek **304 000**	128 Sr **4 595 000**	2 **8 000**	236 Sr **688 000**	.	4,4	8,7	„

dem Sekret herausgeschwemmt würde, so eine größere durchschnittliche Intensität der Besiedelung im Euter vortäuschend.

3) Als Begleitumstände, welche bei diesen erheblichen Schwankungen in den Streptokokkenvierteln ursächlich in Betracht kommen, sind zu nennen das am 7. Juni morgens absichtlich unterlassene Melken, und das Zurückhalten von Milch anläßlich der Brunst am 12. Mai, nach Mitteilung des Melkers am 13. Mai. Gegen einen Einfluß der Brunst an und für sich spricht die Beobachtung, daß die Brunst am 4. Juni, die kein merkliches Zurückhalten der Milch zur Folge hatte, auch keine wesentliche Keimzahlsteigerung nach sich zog. Jedenfalls scheint es angezeigt, beim Studium des Einflusses der Brunst auf die Milchbeschaffenheit die bakterielle Besiedelung nicht außer acht zu lassen, wie das leider bis jetzt immer geschah.

4) Die am 7. Juni vorgenommene Milchstauung zog im rechten Schenkelviertelsekret eine bedeutende Keimzahl- und folgende Zellzahlsteigerung nach sich. In geringerem Maße tritt das Gleiche im linken Schenkelviertel ein. Im Mikrokokkenviertel ist die Zellzahl-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 6.

Keim und Zellzahlen pro Kubikzentimeter aseptisch gewonnener Einzelviertelmilchproben (letzte Gemelkfraktion) von Kuh „Lidy“ 1921.

Entnahme	Rechtes Bauchviertel	Rechtes Schenkelviertel	Linkes Bauchviertel	Linkes Schenkelviertel	1/4 Milchmenge (kg)		
					Morg.	Abds.	Total
8. Okt. abds.	<2 (22 v.) 21000	<2 (6 v.) 26000	<2 (6 v.) 4000	334 Ek (320) 540000	.	.	.
26. „ morg.	<2 10000	4 Ek 20000	<2 20000	800 Ek 244000	3,7	.	.
26. „ abds.	<2 (4 v.) 28000	8 Ek + 2 K (×) 101000	<2 (<2) 36000	480 Ek 577000	.	3,6	7,3
27. „ morg.	<2 (<3) 42000	2 Ek (2) 36000	<2 (<2) 52000	760 Ek 488000	4,1	.	.
27. „ abds.	<2 (<2) 31000	<2 (<2) 36000	<2 (<2) 24000	700 Ek (∞) 378000	.	3,4	7,5
28. „ morg.	<2 (2 aërob) 34000	<2 (2) 40000	<2 (2) 16000	400 Ek (300) 268000	4,2	.	.
28. „ abds.	<2 (×) 52000	<2 (2) 26000	<2 (<2) 16000	180 Ek 278000	.	3,7	7,9
29. „ morg.	8 Ek (8 v.) 44000	<2 (2) 65000	<2 (2) 38000	162 Ek 385000	4,3	.	.
29. „ abds.	<2 (×) 75000	4 v (8 v.) 40000	<2 (2) 30000	600 Ek 290000	.	3,3	7,6
30. „ morg.	Melkakt ausgesetzt. Stauung in 1/4				.	.	.
30. „ abds.	2 Ek (20 v.) 5821000	<2 (<2) 1306000	<2 (2) 3268000	720 Ek (500) 5233500	.	5,9	5,9
31. „ morg.	<2 (<2) 6012000	<2 (12) 1056000	30 Ek (×) 4672000	200 Ek (106) 8144000	2,4	.	.
31. „ abds.	4 K (14) 5642000	<2 (×) 888000	<2 (<2) 3217000	200 Ek (200) 7940000	.	2,5	4,9
1. Nov. morg.	<2 (8 v.) 824000	<2 (8 v.) 514000	<2 (6 v.) 1424000	360 Ek (180) 3906000	3,7	.	.
1. „ abds.	<2 (2) 704000	<2 (<2) 304000	Probe verunglückt	180 Ek (134) 2081000	.	3,3	7,0
2. „ morg.	<2 (<2) 30000	<2 (×) 32000	<2 (6 v.) 180000	80 Ek (×) 542000	3,8	.	.
2. „ abds.	20 Ek (200) 288000	<2 (24 v.) 122000	2 Ek (6 v.) 428000	94 Ek (×) 876000	.	3,3	7,1
3. „ morg.	ein Melkakt ausgesetzt. (Beginn des Trockenstellens)				—	.	.
3. „ abds.	<2 (10 v.) 1452000	<2 (×) 348000	<2 (×) 822000	2240 Ek (2000) 2416000	.	6,0	6,0
4. „	zwei Melkakte ausgesetzt				—	—	—
5. „ morg.	2 Ek (10 v.) 18480000	2 (<2) 2842000	4 Ek (24 v.) 19655000	200 Ek (200) 24790000	6,0	—	6,0
5. „ abds.	drei Melkakte ausgesetzt				—	—	—
6. „							
7. „ morg.	2 Ek (2) 5540000	<2 (<2) 1518000	<2 (<2) 11745000	300 Ek (300) 11640000	4,9	—	4,9
8.—15. Nov.	alles Melken unterlassen						
16. Nov. morg.	<2 (2) 56580000	<2 (<2) 43380000	<2 (<2) 56630000	250 Ek (100) 59920000	.	.	<1
17.—22. Nov.	alles Melken unterlassen						
23. Nov. morg.	<2 (2 v.) 10650000	<2 (8) 31520000	<2 (<2) 26690000	404 Ek (330) 28110000	.	.	<1

Zeichenerklärung: Obere Zahl (links) nicht eingeklammert: Keimzahl pro Kubikzentimeter in Hoheschichtkultur, eingeklammert: Keimzahl pro Kubikzentimeter in Plattenkultur. Untere Zahl (rechts) Zellzahl pro Kubikzentimeter: Ek: typische Eutermikrokokken, K: andere Mikrokokken, v: verschiedene Keime (ansch. Verunreinigungen), ×: Plattenkultur unbrauchbar (verschimmelt etc.).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

steigerung absolut genommen noch geringer, macht sich aber bei der größeren Konstanz vor der Stauung sehr deutlich bemerkbar. Im keimarmen Sekret des linken Bauchviertels ist eine Beeeinflussung des Zellgehaltes durch die Stauung nicht wahrzunehmen.

Trat bei den beiden Kühen, Falbe und Züsi, die bakterielle Besiedelung als ursächliches Moment bei den Zellzahlsteigerungen nach Milchstauung in den Vordergrund, wie das auch in früheren Untersuchungen der Fall war, so deuten die nachstehend erörterten Beobachtungen bei Kuh Lidy auf die Einwirkung noch anderer, vielleicht nicht mikrobieller Faktoren hin.

Kuh Lidy wies während der ganzen Beobachtungszeit ein klinisch gesundes und „normale Milch" sezernierendes Euter auf. Die bakteriologischen Verhältnisse (Tab. 6) waren stets die nämlichen, d. h. sehr geringe Keimmengen im Sekret der beiden Bauchviertel und des rechten Schenkelviertels und ca. Hundert bis Tausende von Mikrokokken pro ccm Sekret des linken Schenkelviertels. Sehen wir zunächst von den beiden kurz nach künstlicher Milchstauung erhaltenen Werten ab, so können wir ein ungefähr paralleles Verhalten von Keim- und Zellzahlen feststellen. Die Zellzahl des keimreicheren linken Schenkelviertelsekretes übersteigt die der anderen stets, und zwar durchschnittlich etwa um das Zehnfache.

Im Gegensatz zu allen anderen bisherigen Beobachtungen tritt aber im Anschluß an die zu zwei verschiedenen Zeiten vorgenommenen Milchstauungen unverzüglich auch in den keimarmen Sekreten eine bedeutende Zellzahlsteigerung auf, die die typischen Unterschiede im Verhalten der 4 Viertel gänzlich verwischt. Dabei erreichen die Sekrete der beiden keimarmen Bauchviertel und des keimreichen linken Schenkelviertels höhere Werte als die des keimarmen rechten Schenkelviertels. Im keimreichen Viertel ist der Einfluß der Stauung im ersten Versuch ein nachhaltigerer, im zweiten übersteigen seine Zellzahlen nach der ersten und zweiten Stauung die der drei keimarmen Viertel noch merklich, das Sekret des rechten Schenkelviertels bleibt dagegen in den beiden Versuchen mit seiner Zellzahl wesentlich hinter den anderen zurück, trotzdem die bakteriologischen Verhältnisse in den drei keimarmen Vierteln nicht wesentlich zu differieren scheinen.

Folgende Erklärungsmöglichkeiten für dieses Verhalten sind in Betracht gezogen worden:

1) Die beobachtete Zellzahlsteigerung in den Bauchvierteln wird durch die Sekretstauung an und für sich ausgelöst, stellt möglicherweise eine Resorptionsleukozytose dar. Es wäre ja nicht unverständlich, daß die ohnehin weniger sekretionstüchtigen Bauchviertel eher in den Ruhezustand übergingen.

2) Die beobachtete Zellzahlsteigerung nach der Steigerung ist mikrobieller Ursache, nämlich

a) die in den beiden Bauchvierteln beobachteten Mikrokokken stellen eine leichte Infektion mit Euterkokken in besonders reaktionsfähigen Eutervierteln dar, die auf die geringste — durch Stauung bewirkte — Vermehrung von Bakterien und Stoffwechselprodukten mit einer rasch einsetzenden und ausgiebigen Entzündung reagieren und gerade darum stets eine geringe Keimzahl bewahren, während die vom rechten Schenkelviertel ausgeschiedenen Kokken nicht eigentliche Euterbewohner, sondern zufällige Verunreinigungen darstellen.

Generated on 2019-09-16 14:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle 7. Kurze Charakteristik der aus Einzelviertelmilchen von Kuh „Lidy" isolierten Mrkroorganismen.

	Ursprung	Datum der Isolierung	Morphologie	Verhalten in hoher Schicht	Fettspaltung in Rahm-agarplatte	Farbe der Kultur auf Rahmagar
5	RB. B.	29. Okt.	Staphylokokken	fak. anaërob	++	weiß
6	„ „	29. „	„	„ „	++	„
7	„ „	29. „	„	„ „	+	gelb
8	„ „	29. „	„	„ „	++	„
11	„ D.	30. „	„	„ „	—	sehr kümmerliches Wachstum
20	„ „	31. „	„	„ „	—	gelb
21	„ „	31. „	„	obl. aërob	++	„
22	„ „	2. Nov.	„	fak. anaërob	++	„
23	„ „	2. „	„	„ „	+	„
24	„ „	2. „	„	„ „	+	„
25	„ „	2. „	„	„ „	+	„
26	„ „	2. „	„	„ „	+	„
32	„ C.	2. „	„	„ „	++	„
35	„ B.	2. „	„	„ „	+	„
41	„ C.	2. „	„	„ „	++	weiß
42	„ D.	2. „	„	„ „	—	spärl. Wachstum
49	„ A.	7. „	„	„ „	—	gelb
50	„ A.	7. „	„	„ „	—	kümmerl. Wachst.
56	„ B.	7. „	„	„ „	+	gelb
12	LB. B.	31. Okt.	„	„ „	—	„
13	„ „	31. „	„	„ „	—	„
14	„ „	31. „	„	„ „	+	„
15	„ „	31. „	„	„ „	—	„
37	„ „	5. Nov.	„	„ „	+	„
38	„ „	5. „	„	„ „	kein	Wachstum
40	„ A.	7. „	„	„ „	—	gelb
10	RS. D.	29. Okt.	„	obl. aërob	+	„
29	„ C.	2. Nov.	„	mikroaëroph.	—	weiß
34	„ C.	3. „	„	fak. anaërob	+	gelblich-weiß
42	„ C.	2. „	„	„ „	++	gelb
46	„ D.	2. „	„	„ „	—	weiß
1	„ D.	26. Okt.	Sarcina	„ „	—	gelb
2	„ „	26. „	Staphylokokken	obl. aërob	+	„
3	„ „	26. „	„	fak. anaërob	+	„
4	„ „	26. „	„	„ „	—	„
16	LS. B.	31. „	„	„ „	+	weiß
17	„ „	31. „	„	„ „	++	„
18	„ „	31. „	„	„ „	+	„
19	„ „	31. „	„	„ „	—	gelb
44	„ C.	2. Nov.	„	„ „	++	weiß
48	„ D.	2. „	„	„ „	+	„
53	„ A.	7. „	„	„ „	++	„
54	„ „	7. „	„	„ „	++	„
55	„ „	7. „	„	„ „	++	„
28	RB. C.	2. „	kl. Kurzstäbchen	obl. aërob	—	bräunlich
39	„ „	2. „	plumpe Kurzst.	„ „	—	weiß
40	LB. C.	2. „	Stäbchen	„ „	+	weißlich
43	„ „	2. „	langer Bazillus	„ „	+	„
47	„ D.	2. „	kurze Stäbchen	„ „	+	bräunlich
9	RS. D.	29. Okt.	kleines Stäbchen	„ „	—	gelb
30	„ C.	2. Nov.	Stäbchen	„ „	—	weiß

Zeichenerklärung:
A. erste Milchfraktion der Morgenmilch, B. letzte Milchfraktion der Morgenmilch,
C. „ „ „ Abendmilch, D. „ „ „ Abendmilch.

Generated on 2019-09-16 14:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle 8.
Ergebnis der Anreicherung kleiner Milchproben von Kuh „Lidy".

Milch vom	Abgefüllt zu	Untersucht am	Herkunft	Zahl der Proben	Befund	Wachstum der anger. Organismen in Dextroseagarschüttelkultur
1. Nov. abds.	1 ccm	7. Nov.	RB.	9	zahlreiche Staphylokokken	gut
dgl.	dgl.	dgl.	„	2	vereinzelte Staphylokokken	gut
„	„	„	„	2	große kokkenartige Organismen	gut (Staphylokokken)
„	„	„	„	1	Kokken u. mittelgroße Stäbchen	
1. Nov. abds.	1 ccm	7. Nov.	LB.	7	zahlreiche Staphylokokken	gut
dgl.	dgl.	dgl.	„	1	keine Bakterien	
„	„	„	„	1	einzelne kleine Kokken	
1. Nov. abds.	1 ccm	7. Nov.	RS.	13	keine Bakterien	Wachstum in Schüttelkult. aus 2 Proben
dgl.	dgl.	dgl.	„	1	Staphylokokken	
1. Nov. abds.	1 ccm	7. Nov.	LS.	10	Staphylokokken	
3. Nov.	1 ccm	8. Nov.	RB.	4	Staphylokokken	
dgl.	dgl.	dgl.	„	3	keine Bakterien	
3. Nov.	1 ccm	8. Nov.	LB.	6	Staphylokokken	
dgl.	dgl.	dgl.	„	1	Kurzstäbchen	
3. Nov.	1 ccm	8. Nov.	RS.	7	Staphylokokken	
dgl.	dgl.	dgl.	LS.	7	Staphylokokken	
7. Nov.	1 ccm unter Paraff. liquid.	6. Dez.	RB.	6	Staphylokokken	
dgl.	dgl.	dgl.	„	1	Staphylokokken u. Stäbchen	
„	„	„	LB.	5	Staphylokokken	
„	„	„	RS.	5	Staphylokokken	
„	„	„	„	1	keine Bakterien	

Tabelle 9.
Ergebnis der Verimpfung von Milchproben der Kuh „Lidy" auf Meerschweinchen.

Herkunft der Probe	Art der Impfung	Impfmenge ccm	Cavia Nr.	Befund
RB. 30. Okt. 1921 C*)	intraperit.	2	72	Sektion am 7. Dez.: o. B.,
dgl.	subkutan	1	77	bleibt 2 Mon. anscheinend gesund
LB. 30. Okt. 1921 C	intraperit.	2	75	Sektion am 7. Dez.: o. B.,
dgl.	subkutan	1	79	bleibt 2 Mon. gesund
RB. 2. Nov. 1921 A*)	intraperit.	2	78	Sektion am 7. Dez.: o. B.,
dgl.	subkutan	1	76	bleibt 2 Mon. gesund
RS. 2. Nov. 1921 A	intraperit.	2	80	Sektion am 7. Dez.: o. B.,
dgl.	subkutan	1	74	bleibt 2 Mon. gesund

*) Zeichenerklärung auf Tab. 7.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Herkunft der Probe	Cavia Nr.	Organ	Ergebnis der nach Ascoli angelegten Kulturen
RB. 30. Okt. 1921	73	Milz	6 Kulturen steril
dgl.	73	Leber	5 „ „ 1 Hefe
LB. 30. Okt. 1921	75	Milz	6 „ „
dgl.	75	Leber	5 „ „ 1 Coccus
RS. 2. Nov. 1921	80	Milz	6 „ „
dgl.	80	Leber	6 „ „
RB. 2. Nov. 1921	78	Milz	3 „ „ 1 Aktinomyces, 1 üppiger grauer Belag, 1 rote Oberflächenkolonie
dgl.	78	Leber	6 Kulturen steril;

b) Die mitgeteilten Keimzahlen geben ein unrichtiges Bild der mikrobiellen Besiedelung der betreffenden Viertel, indem schwer kultivierbare und darum nicht nachgewiesene Organismen die Ursache der beobachteten Zellzahlsteigerung in den Bauchvierteln waren.

c) Die Keimzahlen täuschen insofern über den tatsächlichen Verhalt, als die Menge der aus dem Euter geschwemmten Bakterien noch von anderen Bedingungen als derjenigen der Besiedelungsstärke im Euter abhängt (Ort und Art der Besiedelung).

Die unter 1) genannte Möglichkeit wird dadurch unwahrscheinlich, daß offenbar in keinem der beiden Versuche nach der ersten Sekretstauung eine nennenswerte Resorption stattgefunden hat.

Die Milchmenge von 24 Std. beträgt im ersten Versuch etwa 7,6 kg vor und 5,9 nach der ersten Stauung, im zweiten Versuch 7,1 vor und 6,0 nach der ersten Stauung. In anderen Fällen (vgl. z. B. Falbe Tab. 1) ist ein viel bedeutenderer Rückgang in der Sekretionsmenge nicht von Zellzahlsteigerung in den keimarmen Sekreten begleitet (Falbe Tab. 1, nach den 3 ersten Stauungen und mit einem Sekretrückgang von 5,4 in 24 auf 3,6 in 48 Stunden). Immerhin ist der Einfluß der Sekretstauung an und für sich, d. h. ohne Mitwirkung der Bakterien, noch so wenig erforscht, daß er hier nicht ohne weiteres ausgeschlossen werden kann.

Um der Frage einer dem Nachweis entgangenen mikrobiellen Ursache näher zu kommen, sind folgende Untersuchungen ausgeführt worden:

I. Untersuchung von Stämmen aus allen Vierteln auf Verhalten in der Schüttelkultur, Stichkultur und auf der Rahmagarplatte, zur Beantwortung der Frage, ob die aus den keimarmen Vierteln isolierten Mikrokokken sich alle als typische Euterkokken verhalten, oder ob das nur die aus den 2 Vierteln mit Zellzahlsteigerung isolierten tun. In früheren Untersuchungen (5) hatte sich fakultativ anaërobes Wachstum als eine regelmäßige, Fettspaltungsvermögen als eine sehr häufige Eigenschaft von Euterkokken herausgestellt, im Gegensatz zu den als Verunreinigungen in Betracht kommenden, in der Regel obligat aëroben und meist nicht fettspaltenden Stallstaubkokken.

Die Ergebnisse (Tab. 7) ließen einen durchgreifenden Unterschied zwischen den aus dem rechten Schenkelviertel und den aus den beiden Bauchvierteln isolierten Mikroorganismen nicht erkennen. Die Mikrokokken aus allen drei Vierteln zeigten größtenteils das Verhalten typischer Euterkokken, und verschiedenartige Stäbchen wurden gelegentlich aus jedem der drei Sekrete isoliert (Tab. 7).

Generated on 2019-09-16 14:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

II. Für den Nachweis schwer kultivierbarer Organismen sind aseptisch gewonnene Milchen à 1 ccm in kleine Gläschen (wie sie in der Regel in serol. Technik Verwendung finden) abgefüllt und mit oder ohne Paraffinum liquidum-Ueberschichtung zu 37 ° gestellt worden. Nach 1—4 Wochen wurden sowohl gefärbte Ausstrichpräparate, wie Nigrosinausstriche angefertigt (Tab. 8). Mit wenigen unregelmäßigen Ausnahmen sind nur Mikrokokken angereichert worden, die übrigens nach dem Ergebnis von Dextrosagarschüttelkulturen zu schließen, auch, wenn in genügender Anzahl in der Milch anwesend, dem Nachweis durch die gewöhnliche Kultur nicht entgangen wären.

III. Auch die Verimpfung von Milch auf Meerschweinchen (Tab. 9) ergab ein negatives Resultat, namentlich in bezug auf B. abortus und B. tuberculosis. Kulturen nach Ascoli mit Stückchen Milz und Leber, die auf der Agaroberfläche abgestrichen und ins Kondenswasser gestoßen wurden, blieben entweder, und zwar in den meisten Fällen, steril oder zeigten verschiedenartiges, unverdächtiges Wachstum. Ungefähr gleichzeitig nach dieser Methode angelegte Kulturen von mit Mageninhalt abortierten Föten und infizierten Plazenten injizierten Meerschweinchen gaben stets ein gutes Wachstum.

Was schließlich die letzte in Betracht gezogene Möglichkeit betrifft, daß die Besiedelung im Euter nicht derjenigen des ausgeschiedenen Sekretes entspricht, so konnten darüber weitere Erhebungen nicht angestellt werden, da die Schlachtung des Tieres nicht opportun war.

Eine befriedigende Abklärung des eigentümlichen Verhaltens dieser keimarmen Viertel ist somit nicht gelungen.

Zusammenfassung.

1) Die an aufeinanderfolgenden Tagen vorgenommene Erhebung von Keim- und Zellzahlen normaler aseptisch gewonnener Einzelviertelmilchen bei drei Kühen mit ungleicher Keimzahl der vier Einzelviertelsekrete ergibt einen deutlichen Zusammenhang zwischen Keim- und und Zellzahl, indem die keimreichen Milchen sich auch durch höheren Körperzellgehalt von den keimarmen unterscheiden.

2) In zwei Streptokokkenviertelsekreten wird ein Schwanken von Keim- und Zellzahl beobachtet, wobei Keim- und Zellzahlanstiege in der Mehrzahl der Fälle in einem derartigen Zusammenhang beobachtet werden, daß der Zellzahlanstieg dem Keimzahlanstieg in einem Abstande von 12—24 Std. folgt. Keim und Zellzahlen in diesen Vierteln übersteigen zeitweise das „normale Maß".

3) Während bei zwei Kühen (Falbe, Züsi) künstliche Sekretstauung die Zellzahl in den keimreichen Vierteln ungleich stärker steigert als in den keimarmen, wo sie bei Züsi sogar unverändert bleibt, hat die Stauung bei der dritten Kuh „Lidy" eine erhebliche Zellzahlsteigerung auch in keimarmen Vierteln zur Folge, wodurch der charakteristische Unterschied gegenüber den keimreichen Vierteln vorübergehend ausgeglichen wird. Versuche, dieses Verhalten abzuklären, waren vergeblich.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literaturverzeichnis.

1) Ward, A. R., The invasion of the udder by bacteria. (N. Y. Agr. Exp. Stat. Bull. 178. 1900.) — 2) Löhnis, Vorlesungen über landwirtschaftliche Bakteriologie. Berlin 1913. — 3) Evans, Alice, C., The bacteria of milk freshly drawn from normal udders. (Journ. of Inf. Dis. Vol. 18. 1916. p. 437.) — 4) Burri, R., u. Höhl, J., Periodische Untersuchungen über die Euterbakterien der Kühe des Liebefeldstalles. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 30. 1917. S. 315.) — 5) Steck, W., Beiträge zur Kenntnis der Bakterienansiedlung in normalen Kuheutern. (Schweiz. Milchztg. 9. 1920. Nr. 38, 39; u. Schweiz. Arch. f. Tierheilkde. Bd. 62. 1920. S. 525.) — Ders., Untersuchungen über die bakterielle Besiedelung normaler Kuheuter. (Landw. Jahrb. der Schweiz. Jg. 35. 1921. S. 511.) — 6) Koestler, G., Radosavleviç, M., u. Steck, W., Störungen in der Milchbildung und ihr Zusammenhang mit der natürlichen Bakterienbesiedelung des Euters. (Ebenda. Jg. 35. 1921. S. 631.) — 7) Prescott, S. C., u. Breed, R. S., The determination of the number of body cells in milk by a direct method. (Journ. Infect. Dis. Vol. 7. 1911. p 632.) — Breed, R. S., Cells in milk derived from the udder. N. Y. Agr. Exp. Stat. Bull. 380. march. 1914.) — 8) Koestler, G., Rässalzige Milch und deren Bedeutung für die Käsefabrikation. (Vortr. geh. am III. Schweiz. Milchtag am 13. April 1920 in Bern.)

Nachdruck verboten.

Weitere Studien zur Frage der Aetiologie der Ozaena.

[Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institut Wien.]

Von Dr. med. **Mitsuo Shiga,** Kobe, Japan.

Seit der Veröffentlichung meiner 1. Arbeit zur Frage der Aetiologie der Ozaena habe ich meine Untersuchungen weiter fortgesetzt und bin nunmehr in der Lage, den bisher mitgeteilten Ergebnissen neues Material hinzuzufügen, besonders aber auch gewisse Differenzen aufzuklären, soweit solche zwischen den von mir einer- und von Perez und Hofer andererseits gezüchteten Stämmen bestanden haben.

So zeigten die meisten der von mir frisch gezüchteten Stämme entweder deutliche Bewegung, oder aber es ließ sich solche doch nach längerer und aufmerksamer Beobachtung auch bei scheinbar unbeweglichen Stämmen feststellen, was im Gegensatz zu den Angaben von Perez stand, der die Unbeweglichkeit mit zu den charakteristischen Merkmalen seines Coccobacillus foetidus zählte. Wie schon in meiner ersten Veröffentlichung erwähnt wurde, standen mir bei meinen Arbeiten 9 Originalozaenastämme, die seinerzeit von Perez oder von Hofer gezüchtet worden waren, zum Vergleiche zur Verfügung. Diese Stämme habe ich mehrere Wochen in flüssigen Nährböden kultiviert, und daraufhin gelang es mir, durch die Methode der Geißelfärbung nach Zettnow in einwandfreier Weise Geißeln nachzuweisen. Ich konnte sicher feststellen, daß einige dieser Originalstämme 1—5 peritrich gestellte Geißeln besitzen, die, wenn sie sich einzeln finden, pol- oder mittelständig angebracht sind. Diese Begeißelung konnte ich an zahlreichen Individuen des Stammes Amon, spärlicher bei den Stämmen Steffi, Baumruck und Ozaena I nachweisen. Trotz dem Besitze von Geißeln erscheinen aber diese Stämme, im hängenden Tropfen betrachtet, unbeweglich. Aber durch diesen Nachweis der Begeißelung der Perezschen Stämme ist die diesbezügliche Differenz gegenüber meinen Stämmen aufgehoben, und be-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

züglich der Frage der Beweglichkeit müssen wir nunmehr auch den Coccobacillus foetidus ozaenae Perez als einen beweglichen Bazillus ansehen. Es liegen hier ähnliche Verhältnisse vor, wie in der Pasteurella-Gruppe Lignières, bei welcher Lignières ebenfalls die Unbeweglichkeit als wesentliches Merkmal mit in die Charakteristik aufgenommen hatte, eine Annahme, die späteren Forschungen (Busson, Plasay usw.) nicht standhalten konnte, weil der Begriff der Unbeweglichkeit der Bakterien gleichbedeutend ist mit Geißellosigkeit, wogegen beim Nachweis von Geißeln Beweglichkeit angenommen werden muß. Dies illustriert am besten der scheinbar unbewegliche, aber begeißelte Perez-Stamm Amon, der, virulent gemacht, im Peritonealexsudat lebhafte Eigenbewegung zeigt, in den künstlichen Kulturen dagegen immer unbeweglich erscheint. Der auffallend häufige Befund nur einer einzigen Pol- oder mittelständigen Geißel am Bakterienleibe dürfte sich durch Ablösen der anderen peritrich geordneten Geißeln unschwer erklären lassen.

Auch die von mir gezüchteten Stämme zeigen eine analoge Art der Begeißelung, auch hier lassen sich zumeist 1—5 peritrich gestellte Geißeln nachweisen, und die Beweglichkeit der Bazillen im hängenden Tropfen ist meist ausgesprochen, kann aber auch fehlen.

Eine 2. wesentlich wichtigere Frage schien mir noch der Aufklärung bedürftig, daß es nämlich gelatineverflüssigende und nicht verflüssigende Stämme gibt, die beide in der Kultur einen dem Geruch des Ozaenakranken ähnlichen Gestank produzieren, sich kulturell gleich verhalten haben und sich überdies wechselseitig durch die zugehörigen Immunsera häufig agglutinieren ließen. Aber eben diese letzteren Angaben bedürfen nun auf Grund meiner weiteren Studien und, bevor ich in meinen Ausführungen weiter gehe, einer gewissen Korrektur. Als ich einige der nicht verflüssigenden Stämme, die sich wechselseitig auch mit Immunseris der verflüssigenden Stämme agglutiniert hatten, später nachprüfte und an Stelle der 15-proz., auch 10-proz. und 5-proz. Gelatine verwendete, ließ sich nunmehr in vielen Fällen ein mehr oder weniger erkennbares, also nur graduell verschiedenes Verflüssigungsvermögen bei Stämmen, die 15-proz. Gelatine nicht verflüssigt hatten, nachweisen. Daneben steht eine Reihe kulturell untereinander und mit Perez-Stämmen vollkommen identischer Stämme, die auch in der 5-proz. Gelatine niemals Verflüssigung zeigen, die aber weder mit den Immunseris der Perez-Stämme, noch mit jenen der von mir gezüchteten, Gelatine verflüssigenden Stämmen eine Agglutinationsreaktion gaben.

Diese letzteren mit den von Perez und Hofer gezüchteten kulturell absolut identischen Stämme finde ich nunmehr in letzterer Zeit nach dem von mir als zweckmäßig erprobten und im folgenden wiedergegebenen Verfahren bei Ozaenaverdacht immer häufiger vor, eine Tatsache, die bei der gleichzeitig fast stets ausgeprägten hohen Tierpathogenität dieser Stämme, der meist vorhandenen Produktion des typischen Gestankes sowie ihrer kulturell so fest umschriebenen Merkmale, denn doch diese Befunde als höchst beachtenswert für die Frage nach der Aetiologie der Ozaena erscheinen lassen.

Zur Auffindung derartiger Stämme habe ich mir die Tatsache zunutze gemacht, daß der von Perez beschriebene Coccobacillus foetidus und die ihm kulturell gleichen, von mir gezüchteten Stämmen im Gegensatze z. B. zu Abel, Coli, Paracoli, vielen Proteus-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stämmen usw. Mannitzucker niemals vergären und daher neben diesen rot oder rötlich wachsenden Kolonien als solche gut zu erkennen sind. Diese Mannitagarplatten dürfen aber nicht wie die Drigalski-Platten einen Zusatz von Kristallviolett haben, denn dadurch wird das Wachstum dieser Bazillen wesentlich beeinträchtigt, ja oft vollkommen gehemmt. Ich gehe nunmehr so vor, daß ich die dem Patienten entnommene Kruste oder das eitrige Sekret in mehrere Portionen teile, diese in einzelnen Bouillonröhrchen gut aufschwemme und zerteile, und nun gleich von dieser Verdünnung Platten streiche, ferner nach spätestens 24 Std. aus der bebrüteten Bouillonkultur 1 Oese in ein 2. Bouillonröhrchen überschwenke und nun sofort aus dieser Verdünnung eine Oese voll auf die Mannitagarplatte übertrage und mit einer gebogenen Glaskapillare gleichmäßig über die ganze Platte verstreiche. Da ist es nun interessant, zu sehen, wie verschiedenartig sich durch dieses Verfahren die Flora der einzelnen Sekretpartien erweist, und wiederum auffallend, wie häufig bei durchgeführter Plattenaussaat, im Gegensatze zur Verschiedenartigkeit der übrigen Flora, sich Kolonien von Perez gleichen Bakterienstämmen auffinden lassen. Ja sogar die sonst so lästigen Proteus-Verunreinigungen, die bei Verarbeitung größerer Krusten oder Sekretteile zu einer einzigen Bouillonkultur so häufig störend auftreten, lassen sich auf diese Weise umgehen, und es ist interessant, zu beobachten, wie nur gewisse Teile der Krusten oder Sekrete die Proteus-Verunreinigung enthalten, andere Teile dagegen vollkommen frei davon sind.

Es sind dies eben alles Erfahrungen, die ich erst im Laufe der zahlreichen Untersuchungen gesammelt habe, und die Mannitagarplatte leistet mir nunmehr für die Differenzierung sehr gute Dienste, denn das von Hofer und anderen geübte Verfahren der vorausgehenden Bouillonkultur läßt eventuellen Ueberwucherungen einen zu breiten Spielraum. Zur Untersuchung auf das Vorhandensein von Perezschen Bazillen gehört unbedingt persönliche Erfahrung und Sorgfalt des Untersuchers, und die perzentuellen Ergebnisse der einzelnen Untersucher werden ähnlich den positiven Befunden bei Dysenterie immer schwankend und abhängig von individueller Technik und Erfahrung bleiben. Auch ist es ganz sicher, daß nicht jeder klinische Fall zur bakteriologischen Untersuchung geeignet ist. Alte chronische Fälle bieten wenig Aussicht auf Erfolg, und mir will es scheinen, daß stark eitriges Sekret besser geeignet ist, als Krusten, jugendliche Patienten und Anfangsstadien dabei wiederum mehr Aussicht auf Erfolg bieten. Ich fand im Verlaufe meiner Untersuchungen bei 2 Fällen (Dalfert und Holuschka) die reichlich stinkenden, dickflüssigen Eiter sezernierten, und deren klinische Diagnose auf Ozaena lautete, bei der Aussaat, auf der größeren Zahl der Platten Reinkulturen von einem kulturell mit Perez identischen Bazillus, ein gewiß sehr beachtenswertes Ergebnis. Durch die Untersuchung zahlreicher Fälle gewinnt man eben den Eindruck, daß Stagnation des Sekretes und Krustenbildung das sekundäre Wuchern, insbesondere von Proteus und B. Abel-Löwenberg außerordentlich begünstigen, wodurch die Auffindung des Perezschen Bazillus sehr erschwert wird. Dieses wird oft überhaupt nur dadurch ermöglicht, daß man die entnommene Probe in möglichst viele Einzeluntersuchungen einteilt, um so auf Sekret oder Krustenteile zu stoßen, die noch weniger der sekundären Wucherung und Zersetzung durch die saprophytische Flora der Nase ausgesetzt waren.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In dieser Weise vorgehend, war ich nun insbesondere im 2. Teil meiner Arbeitsperiode in der Lage, in einem größeren Prozentsatz der Fälle, 1mal, sogar unter 7 besonders ausgewählten, 5mal, einen Bazillus zu isolieren, der in allen Einzelheiten die von Perez beschriebenen Kulturmerkmale aufweist (die Beweglichkeit habe ich ja inzwischen auch für die Perez-Bazillen als bestehend festgestellt), und demnach als diesem verwandt, wenn nicht identisch, angesehen werden muß. Nur bezüglich der Agglutination ergeben sich Abweichungen, worauf ich später zurückkommen werde.

Diese Bazillen verflüssigen, wie erwähnt, niemals die Gelatine, auch nicht bei 5-proz. Konzentration und bei langdauernder Beobachtung, gleichen also auch hierin völlig den von Perez gezüchteten Stämmen, unterscheiden sich aber auch wie jene in dieser Beziehung wesentlich von dem anderen von mir gefundenen gelatineverflüssigenden Typus.

Ich habe also, und daran müssen wir zunächst festhalten, im Sekrete der Ozaenakranken gelatineverflüssigende und -nichtverflüssigende Stämme aufgefunden, die sich kulturell zwar nahestehen, von denen sich aber nur die letzteren nach jeder Richtung mit den von Perez erhobenen Befunden decken.

Ich kann über diese Divergenz im Verhalten gegen die Gelatine nicht ohne weiteres hinweggehen, 1) weil sich im Sekrete Ozaenakranker sehr häufig gestankerzeugende, gelatineverflüssigende Proteus-Stämme vorfinden, und 2) weil eben dieser Umstand besonders von Grünwald und Waldmann benützt wurde, um nicht nur die Richtigkeit der Angaben von Perez und von Hofer in ihrer Gesamtheit anzuzweifeln, sondern um überhaupt einen einheitlichen Begriff der Ozaena und mit ihr jegliche infektiöse Ursache einer derartigen Erkrankung zu leugnen. Grünwald und Waldmann untersuchten 17 Fälle von Nasen-, Kiefer-, Keil- und Siebbeineiterungen, unter denen nach ihren eigenen Angaben nur ein Teil der Fälle ausgesprochen klinische Zeichen von Ozaena darbot. Sie konnten bei ihren Untersuchungen niemals den von Perez beschriebenen Coccobacillus, um so häufiger aber ein gelatineverflüssigendes Stäbchen finden, das sie in die Proteus-Gruppe verweisen. Nur 1mal fanden sie ein den übrigen identisches Stäbchen, das aber Gelatine nicht verflüssigte, das sie für eine mit dem Proteus Zenkeri identische Form halten. Nun zeigen aber diese von ihnen gezüchteten Stämme keine Pathogenität für Kaninchen, und nur bei weißen Mäusen riefen sie Septikämie hervor; ähnliche Proteus-Stämme fanden sie auch auf der gesunden Schleimhaut vor. Beide Forscher stellten sich nun auf den Standpunkt, daß bei den absolut nicht einheitlichen, aber unter „Ozaenasyndrom" zusammengefaßten Erkrankungen der Nase, in sekundärer Weise und ohne ursächliche Beziehung zur Erkrankung, Proteus-Stämme das vielleicht durch den Bazillus Abel-Löwenberg zähflüssig gemachte Sekret zersetzen, und auf diese Weise der eigenartige Gestank produziert wird. Dabei machen die genannten Autoren die Einschränkung, daß diese Gestankbildung durch Proteus-Stämme nur unter bestimmten Bedingungen stattfinde, denn man fände Proteus häufig auch dort, wo dieser Gestank völlig fehle, genau wie es umgekehrt stinkende Borken gibt, in denen niemals Proteus nachzuweisen war. Grünwald und Waldmann identifizieren mit ihren eigenen ohne weiteres die Befunde von Hauke, de Simoni, ferner von Sforza und Rip-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

puti, und da sie den Coccobacillus Perez niemals vorfanden, sprechen sie ihm jegliche ätiologische Beziehung für die Ozaena ab. Dies geschieht mit folgenden Worten: „Wenn man den zwingenden Beweis der spezifischen Bedeutung eines bisher unbekannten Bakteriums für eine Erkrankung führen will, dann muß es, wenn einmal, dann jedesmal, gelingen, den Keim in den entsprechend klinisch identischen Erkrankungen zu finden, und zwar kulturell." Wie erklären aber die beiden Autoren dann die Aetiologie der Ruhrbazillen, wenn sie die geringen Prozentualzahlen bakteriologisch sichergestellter Ruhrfälle den durch klinische Diagnose und namentlich durch nachträgliche Agglutination mit Patientenblut gesicherten gegenüberstellen? Ist das „Syndrom" der Ozaena nicht auch ein über Jahre sich hinziehender Prozeß? Aber ich wollte durch diese Aussprache zunächst nur die Tatsache entsprechend hervorheben, daß schon eine Reihe früherer Untersuchungen einerseits sich mit dem Vorkommen gelatineverflüssigender und Gestank produzierender Bazillen im Sekrete und den Borken Ozaenakranker beschäftigt hatte, die allerdings in der Mehrzahl der Fälle als Proteus-Bazillen angesprochen wurden, andererseits daß ich in einer größeren Anzahl von Fällen nicht nur gelatineverflüssigende, sondern auch solche Bazillen gezüchtet habe, die völlig identisch mit dem Perezschen Coccobacillus sind, ja daß diese sogar einige Male im Sekrete Ozaenakranker, respektive in gewissen Sekretpartien und bei richtig durchgeführter Untersuchung in Reinkulturen zutage getreten sind. Dies drängt von selbst die Frage auf, ob diese beiden Bazillenarten wirklich zusammengehörig sind, ähnlich wie etwa Proteus Hausseri und Proteus Zenkeri, und ob sie auch systematisch in die Proteus-Gruppe einzureihen sind.

Eben diese Fragestellung hat den 2. Teil meiner Arbeit vorwiegend beschäftigt.

Wenn ich zunächst meine gelatineverflüssigenden Stämme in ihrer eventuellen Beziehung zur Proteus-Gruppe betrachte, so fällt zunächst die schon in meiner 1. Veröffentlichung hervorgehobene Virulenz und Pathogenität dieser Stämme gegenüber den Versuchstieren auf. Während vulgäre Proteus-Stämme, wie auch die von Grünwald und Waldmann aus der Nase gezüchteten, zumeist nur für weiße Mäuse, nicht aber für Meerschweinchen und Kaninchen pathogen sind, sind die von mir gezüchteten gelatineverflüssigenden Stämme nicht nur für Meerschweinchen, sondern besonders auch für Kaninchen pathogen, so daß selbst subkutane Infektionen unter dem Bilde hämorrhagischer Septikämie verlaufen und zum Tode führen können. Auch die Kulturfiltrate sind giftiger, als dies von Proteus-Stämmen schlechthin bekannt ist. Nun kommt allerdings den bei Flecktyphus gezüchteten Proteus X-Stämmen eine ähnliche erhöhte Virulenz und Pathogenität zu, weshalb ich bei meinen vergleichenden Studien eine größere Reihe dieser Stämme, die ja in der so unscharf umschriebenen Gruppe Proteus ebenfalls eine Sonderstellung einnehmen, herangezogen habe. Ich habe folgende Stämme auf den verschiedensten Zuckernährböden (in Form der Barsiekowschen Nährböden) vergleichsweise gezüchtet, und sie auch in agglutinatorischer Wechselbeziehung geprüft:

B. Proteus X 19, B. X Epstein, B. X 21 Braun und Salomon, Proteus R Bulgarien, Proteus Reinhardt, B. X 3 Weil, B. X Löwy, B. X Dienes, ferner Proteus mirabilis und Zenkeri, B. fluorescens liquefaciens, B. putidum Flügge und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

B. murisepticum. B. murisepticum habe ich deshalb zum Vergleiche mit herangezogen, weil dieses Bakterium, das im Systeme dem Proteus am allernächsten steht, auf Gelatine gebracht, konstant nur jene zarte und im Beginne nur angedeutete Gelatineverflüssigung zeigt, die sich im Stich zunächst nur in Form eines Tannenbäumchens nachweisen läßt, wogegen die mir zur Verfügung stehenden Zenker-Stämme auf weniger konzentrierter Gelatine stets deutliche Verflüssigung zeigten.

Diese vergleichende Gegenüberstellung ergab nun zunächst, daß zwar die meisten Proteus-Stämme, auch die Proteus X-Stämme inbegriffen, die meisten Zuckerarten mehr oder weniger unter Säurebildung zersetzen, doch untereinander wiederum so weitgehende Differenzen aufweisen können, daß in dieser Richtung eine Abgrenzung nicht gut durchführbar ist, obgleich die von mir gezüchteten Ozaenastämme Milch und Mannitzucker niemals angreifen. Die Verflüssigungen im Gelatinestiche finden ebenfalls zum Unterschiede gegenüber meinen Stämmen meist auch vom Stichkanale aus statt, so daß eine strumpfförmige Verflüssigung entsteht, wogegen meine Stämme langsam und schüsselartig von der Oberfläche in die Tiefe verflüssigen. Die mit meinen Stämmen hergestellten Immunsera haben keinen einzigen Proteus-Stamm, noch Murisepticum fluorescens und putidum mitagglutiniert, desgleichen zeigen meine verflüssigenden Stämme keinerlei Mitagglutination gegenüber einem durch Bacterium murisepticum hergestellten Immunserum, dagegen zeigen einige meiner Stämme eine schwächere Mitagglutination gegenüber einem agglutinierenden X 19 Serum, die wieder völlig fehlt, bei einem mit Proteus vulgaris hergestellten Serum.

Ziehen wir nun noch den in den flüssigen Kulturen gebildeten Gestank zum Vergleiche heran, so ist es ja bekannt, daß Proteus-Bazillen eiweißhaltige Nährböden in vielen Fällen unter Gestank zersetzen, aber der von ihnen erzeugte Gestank ist ausgesprochen faulig, und geübte Nasen unterscheiden ihn deutlich von dem süßlichen, faden, leimartigen Geruch der Ozaenakrusten, den eben die von mir gezüchteten, verflüssigenden Stämme so prägnant in der Kultur wiedergeben.

Dennoch lasse ich zunächst noch die Frage offen, ob diese von mir bei Ozaenakranken gefundenen gelatineverflüssigenden Stämme in die so weit fassende Proteus-Gruppe einzureihen sind, oder nicht, möchte aber doch noch einmal kurz die Unterschiede hervorheben, die sie vom Proteus-Bazillus schlechtweg unterscheiden, um so mehr, als typischer Proteus im Sinne der Grünwald-Waldmannschen Befunde auch von mir im Sekrete der Nasen gesunder und Ozaenakranker nur zu häufig gefunden, aber stets als solcher erkannt und gewertet werden konnte.

Demnach unterscheiden sich die von mir gezüchteten gelatineverflüssigenden Stämme vom vulgären Proteus-Bazillus dadurch, daß sie auf der Platte niemals ausschwärmen, sondern stets isolierte Kolonien bilden, Milch und Mannitzucker nicht zersetzen, im Gelatinestich nur oberflächlich, nicht aber auch vom Stichkanal aus verflüssigen, pathogen für Kaninchen sind, und bei diesen im gelungenen Versuche schwere Rhinitiden mit teilweiser Erweichung der Muscheln und Nekrosen in den Ohren hervorrufen können. In flüssigen Kulturen erzeugen sie einen eigenartig süßlichen, an fauligen Leim erinnernden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Geruch, der verschieden ist vom einfach fauligen Gestank der Proteus-Kulturen.

Die von mir in letzter Zeit bei fortgeschrittener Technik häufiger gefundenen, Gelatine nicht verflüssigenden und in völliger Uebereinstimmung mit den Perezschen Angaben stehenden Stämme erweisen sich dagegen als eine unter sich kulturell vollständig begrenzte und abgeschlossene Gruppe, und wenn ich diese Gelatine verflüssigenden und nicht verflüssigenden Stämme zunächst auch streng voneinander geschieden wissen will, so geschieht es einmal deswegen, weil dieses Merkmal tatsächlich konstant ist und sich deshalb diese Gruppe auch einwandfreier von Proteus abtrennen läßt, als es die verflüssigende Art erlaubt. Weder bei den alten von Perez oder von Hofer gezüchteten, noch auch bei meinen frischen oder älteren Stämmen zeigt sich auch nur die geringste Spur einer solchen, und dadurch zeigt sich in allen Punkten eine so völlige Uebereinstimmung mit den von Perez gemachten Angaben, daß die Existenz dieser Bakterienart in Sekreten von Ozaenakranken nunmehr als gesichert angesehen werden darf. Wie weit diese Tatsache zur Festigung der Perezschen Ozaenatheorie herangezogen werden kann, darauf werde ich später zurückkommen. Es ist für die Perezschen Befunde besonders wesentlich, daß sich diese einheitlich gefaßte Gruppe von dem so unscharf umschriebenen Genus Proteus, dessen Hauptmerkmale durch die Peptonisierung der Gelatine, das Ausschwärmen der Kolonien und die faulige Zersetzung eiweißhaltiger Nährböden charakterisiert sind, gerade in dieser Richtung sicher abtrennen läßt, und dies um so mehr, als exakte Untersuchungen, wie ich mich überzeugen konnte, die Zahl der sogenannten Zenker-Stämme immer mehr einschränken. Diese Proteus-Stämme erlangen nur zu häufig ihr Verflüssigungsvermögen auf weniger konzentrierten Gelatinenährböden wieder, ein Verhalten, das bei echten Perez-Stämmen niemals beobachtet werden konnte. Auch unterscheiden sich die Agarkulturen meiner verflüssigenden und nicht verflüssigenden Stämme in der Glätte der Oberfläche (die einen sind tropfsteinartig gerauht, die anderen glänzend glatt) voneinander. Die Tendenz, Alkali zu bilden, ist bei den verflüssigenden Stämmen viel ausgeprägter als bei den nichtverflüssigenden, welch letztere auch nach Wochen die Lackmusmolke völlig unverändert lassen.

Die von mir im Sekrete geeigneter Ozeanafälle mittels meines Verfahrens der Manitagarkulturen nun häufiger gefundene Bakterienart deckt sich zwar, wie erwähnt, vollständig mit den Befunden von Perez in bezug auf die kulturellen Merkmale, weist aber in agglutinatorischer Beziehung keine Einheitlichkeit auf; ein Verhalten, welches schon im 1. Teile meiner Arbeit ausführlicher besprochen wurde. Ich habe damals vor allem auf die Agglutinationsverhältnisse in der Coli- und Gärtner-Gruppe hingewiesen. Von der Wiedergabe ausführlicher Tabellen muß äußerer Umstände halber abgesehen, und die Ergebnissee sollen im kurzen zusammengefaßt werden.

Ich habe mir zunächst mit 3 alten, von Perez und Hofer gezüchteten Stämmen entsprechende Immunsera hergestellt, ferner mit meinen Stämmen Holuschka, Dalfert, Bakosta, Sikora und Weichhardt. Die wechselseitige Beeinflussung durch diese agglutinierenden Sera ist nun äußerst gering und ergibt völlig unzusammenhängende Resultate, ähnlich wie wir dies bei der Gruppe Coli sehen. Ich gebe einige Beispiele darüber. So agglutiniert z. B. das Serum

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Holuschka außer den eigenen Stamm nur noch in niedrigeren Werten die Stämme Weichhardt und Kaiser, das Serum Bakosta die Stämme Müller, Kaiser und Weichhardt, das Serum Sikora die Stämme Müller, Kaiser und Weichhardt. Nun war zu erwarten, daß ein mit Stamm Weichhardt hergestelltes Immunserum die Stämme Bakosta, Holuschka und Sikora gleichfalls agglutinieren würde, was aber nicht der Fall ist, denn die beiden ersten Stämme werden gar nicht, der letztere nur bis 100 agglutiniert und sonst nur noch der Stamm Müller. Ganz ähnlich verhalten sich die Immunsera gegenüber den alten, von Perez und Hofer gezüchteten Stämmen, und hier ist besonders das Verhalten des von mir gezüchteten Stammes Dalfert interessant, dessen Immunsera alle Perez-Hofer-Stämme gut agglutiniert, wogegen dieser Stamm selbst, der vom isohomologen Serum sehr gut agglutiniert wird, sich gegenüber Immunseris der Perez-Stämme völlig unagglutinabel erweist.

Diese in Kürze mitgeteilten Befunde dürften wohl den schon früher geäußerten Schluß berechtigt erscheinen lassen, daß wir in dieser Gruppe die Agglutinationsreaktion zur Identifizierung der einzelnen Stämme nicht oder nur in sehr beschränktem Maße heranziehen können, weil eben ganz analoge Verhältnisse hier vorzuliegen scheinen, wie in der Coli- oder Pasteurella-Gruppe, und daß wir unser Hauptgewicht mehr auf die kulturellen und morphologischen Merkmale, die dieser Gruppe eigen sind, legen müssen, unter besonderer Berücksichtigung ihres Fundortes, der erkrankten Nase.

Die frisch gezüchteten Stämme des Typus Perez weisen vielfach eine außerordentlich hohe Virulenz und Pathogenität gegenüber den meisten kleinen Versuchstieren auf, und diese hält verhältnismäßig lange Zeit auch bei künstlicher Weiterzüchtung an. Aber auch alte Stämme lassen sich durch Meerschweinchenpassage häufig wieder sehr hoch bringen. So wurde der vor etwa 10 Jahren gezüchtete Stamm Amon schon nach der 3. Meerschweinchenpassage so virulent, daß er Meerschweinchen, Mäuse und Ratten auch nach subkutaner Injektion schon in wenigen Stunden unter dem Bilde einer hämorrhagischen Septikämie tötete. Die Bezillen selbst sind im Blute und in allen Organen nachzuweisen. Kaninchen erliegen der intraperitonealen oder intravenösen Injektion kleiner Dosen in 1—5 Tagen, wobei es häufig auch zu eitriger Sekretion aus der Nase kommt. Ja selbst durch Erhitzen abgetötete und karbolisierte Aufschwemmungen frischer Stämme können noch so toxisch sein, daß man bei Immunisierungsversuchen mit ihnen viele Tiere verliert, die dann bei der Sektion ähnliche Befunde aufweisen, wie jene an der Infektion oder nach Injektion von Kulturfiltraten verstorbenen Tiere. Bei Immunisierung mit derartigen Vakzinen sieht man auch öfters im Verlaufe derselben katarrhalische Entzündungen mit eitriger Sekretion der Nase auftreten, was ich in Uebereinstimmung mit den Ergebnissen der Versuche mit Kulturfiltraten nicht anders deuten kann, als daß die in den Bakterien enthaltenen giftigen Substanzen speziell die Nasenschleimhaut reizen und schädigen, denn ich fand in einigen Fällen die Ausstriche des massenhaft Leukozyten enthaltenen Nasensekretes fast frei von Bakterien und Kokken, die ich als auslösende Ursache der bestehenden Sekretion hätte ansprechen können.

Bei längerer Dauer der Erkrankung der Kaninchen treten gar nicht selten schwere bis vollständige Lähmungen der Hinterbeine in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Erscheinung, die dann bis zu dem 2—3 Tage später erfolgenden Tode unvermindert andauern.

Der Sektionsbefund ist bei Kaninchen ein äußerst dürftiger. Man findet seröse bis serös-blutige Flüssigkeit im Perikard, weniger in Brust- und Bauchhöhle, dilatiertes Herz und fast immer sehr starke Hyperämie und Ekchymosen in zahlreichen Drüsen, die Payerschen Plaques sind häufig stark injiziert und prominent. Stets ist ganz besonders die Thymusdrüse betroffen, die strotzend mit Blut gefüllt und durch zahlreiche größere und kleinere Blutungen wie gesprenkelt erscheint.

Was die Erscheinungen in der Nase betrifft, so findet sich nach intravenösen Injektionen von Rein- oder auch Mischkulturen fast stets eine starke Hyperämie der Muscheln, häufig kommt es zu eitriger Sekretion, die bei chronischem Verlaufe der Erkrankung zur Atrophie der Schleimhaut und Teilen des knöchernen Gerüstes führen kann. Daß aber jede Injektion von Rein- oder Mischkulturen zur eitrigen Sekretion führen müßte, soll damit keineswegs behauptet sein, und individuelle Eigenarten der Versuchstiere spielen dabei gewiß eine ebenso große Rolle, wie jene der verwendeten Kulturen.

Wenn ich demnach auch die Richtigkeit der Angaben von Perez und von Hofer über die im Tierversuch beobachteten nasalen Reaktionen bestätigen kann, so erfahren diese durch meine Beobachtungen doch insofern eine Einschränkung, als die positiven Ergebnisse und auch die Züchtungsversuche aus dem Nasensekrete der Versuchstieree nach intravenöser Injektion von Mischkulturen aus Borken oder Sekreten Ozaenakranker der Zahl nach von den negativen Resultaten übertroffen werden. Die Kaninchennasenschleimhaut scheint eben auch für andere Bakterien bis zu einem gewissen Grade durchgängig zu sein. Anders liegen die Verhältnisse bei Verwendung von Reinkulturen, Bei diesem Modus findet man die nasale Reaktion nicht nur bei der größeren Mehrzahl der Vorsuchstiere eintreten, sondern auch die Wiedergewinnung des betreffenden Bakterienstammes aus dem Sekrete durch die Mannitplattenkultur gelingt häufiger. Allerdings ist die Intensität der Nasalreaktion auch hier abhängig von der Individualität des Versuchstieres und des jeweiligen Bakterienstammes, und selbst ausgesprochene dickeitrige Katarrhe können spontan zurückgehen, ohne erkennbare Veränderungen zu hinterlassen. Diese Einschränkung der Perezschen Angaben erscheint mir an sich gar nicht wesentlich für die Aufrechterhaltung der von Perez und von Hofer aus ihren Beobachtungen gezogenen Schlußfolgerungen, wohl aber wichtig, um Mißverständnissen und angeblichen Mißerfolgen bei Nachprüfungen vorzubeugen. Zur kritischen Besprechung dieser Fragen ist eben die Durchprüfung an größeren Versuchsreihen notwendig gewesen. Nur Mischkulturen, die von Ozaenasekreten stammen, die von Haus aus große Mengen Perezscher Bazillen enthalten, bieten Aussicht auf ähnliche Resultate, wie sie sich bei Verwendung von Reinkulturen ergeben, und deshalb kann nicht genügend für die Wahl geeigneter Fälle zur Nachprüfung dieser Frage plädiert werden. Zieht man dabei noch die individuellen Virulenzgrade der einzelnen Stämme in Rechnung, so ergibt sich weiter, daß nur frische, jugendliche Ozaenafälle, die meiner Erfahrung nach reichlichere und virulentere Bazillen enthalten als alte chronische Fälle, für die Nachprüfung der Perezschen Angaben geeignet sind, nicht aber jede Ozaena schlechtweg. Die intra-

Generated on 2019-09-16 14:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

venöse Injektion von Reinkulturen, z. B. meiner Stämme Dalfert, Holuschka und Kaiser, die meist gute nasale Reaktion bei den Kaninchen auslösten und aus dem Sekrete durch Aussaat auf Mannitplatten wiedergewonnen werden konnten, ergab noch einen anderen interessanten Befund. Auf den mit dem Nasensekrete der Kaninchen angelegten Mannitplatten wuchsen neben Perez-Kolonien zahlreiche Kolonien von Kapselbazillen vom Typus Abel-Löwenberg, und zwar in beiden auch bei Menschen zu beobachtenden Typen. Die eine dieser Arten wächst auf Lackmusmannitagar dick schleimig, aber glasartig durchsichtig, die andere, zwar ebenso schleimige, ist aber völlig undurchsichtig und ganz weiß porzellanartig. Beide zersetzen Mannit und die meisten gangbaren Zuckerarten. Dieser Befund des Auftretens des B. Löwenberg-Abel bei eitriger Rhinitis, die durch Injektion von Reinkulturen von Perez-Bazillen hervorgerufen wurde, stützt meine schon in der ersten Arbeit geäußerte Vermutung, daß Löwenberg-Abel in der Nase erst sekundär auf der entzündlich veränderten oder atrophischen Schleimhaut als Saprophyt zwar üppig wuchert, aber mit dem Krankheitsprozeß der Nase als solchem wahrscheinlich gar nichts zu tun haben dürfte, und zwar um so mehr, als seine Existenz sich ja auch in gesunden Nasen zu 10—20 Proz. nachweisen läßt, wenn auch hier die Zahl der Kolonien hinter jenen bei entzündlichen Prozessen weit zurückbleibt.

Durch diese Versuche findet die von Hofer als Rhinophilie bezeichnete Erscheinung der Ausscheidung der intravenös einverleibten Ozaenabazillen in die Nase und das Entstehen der lokalen Eiterung daselbst ihre Bestätigung, doch auch hier wieder unter der Einschränkung der Abhängigkeit von der Individualität des Versuchstieres und der Virulenz des Stammes. Diese Einschränkung muß gemacht werden, weil dadurch eine tatsächlich bestehende wesentliche Tatsache hervorgehoben wird, deren Kenntnis für die Beurteilung der ganzen Frage und ihre Nachprüfung einerseits von Wichtigkeit ist, andererseits der Perezschen Theorie und den Ergebnissen der Hoferschen Untersuchungen um so weniger Eintracht tut, je häufiger die Bazillen im Sekrete Ozaenakranker von Nachuntersuchern nachgewiesen werden. Ist doch beim Tierversuche mit Dysenterie der Ausfall des Experimentes von ganz ähnlichen Faktoren abhängig, ohne daß deshalb heute irgend jemand den positiven Befund als ein Spiel des Zufalles, den negativen als einen Gegenbeweis für die aufgestellte Theorie ansehen möchte. Außerdem muß bei jedem Tierversuch mit Ozeanabazillen genau darauf geachtet werden, ob die betreffenden Kaninchen nicht schon natürlicherweise an einem Nasenkatarrh erkrankt sind, die sich nach meiner Erfahrung häufig nach intravenösen Injektionen verschiedenster Art wesentlich verstärken und so positive Resultate vortäuschen können. Aus diesem Grunde sollte deshalb auch immer der Kulturversuch aus dem Nasensekrete angeschlossen und bis zum positiven Ergebnisse verfolgt werden. So habe ich einmal bei einer spontan aufgetretenen schweren eitrigen Entzündung einer Kaninchennase ein Stäbchen isoliert, das bei Injektion in die Ohrvene zunächst eitrige Entzündung in der Nase des neuen Versuchstieres erzeugte und nach mehreren Tagen zum Tode führte. Ich dachte zunächst, obwohl das 1. Kaninchen mit Ozaenakaninchen nicht in Berührung stand, an eine eventuelle spontane Uebertragung der Infektion, doch ergab die nähere Untersuchung des Stammes einen Bazillus, der am

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ehesten in die Paratyphus B-Gruppe einzureihen war. Dieses schöne Beispiel einer experimentellen Rhinophilie einer natürlichen Nasenkrankheit der Kaninchen ließ sich aber nicht weiter reproduzieren, da die an 3 weiteren Tieren vorgenommenen Injektionen jedesmal innerhalb kurzer Zeit unter dem Bilde hämorrhagischer Septikämie zum Tode der Versuchstiere führten.

Was nun schließlich den Geruch dieser Gelatine nicht verflüssigenden, dem Coccobacillus foetidus ozaenae Perez so nahestehenden, wahrscheinlich identischen Bazillus betrifft, so ist er in frisch gezüchteten Reinkulturen sehr häufig nachzuweisen, und eine Verstärkung desselben in Mischkulturen mit anderen aus der Nase gezüchteten Bakterien oder Kokkenarten konnte ich nicht beobachten. Durch Tierpassagen wird zwar die Virulenz der Stämme gesteigert, aber der Geruch der Kulturen nimmt dabei häufig ab, ja schlägt beim Meerschweinchenversuche nach intraperitonealer Infektion in einen eigenartig widerlichen, aromatischen Geruch um. Es gibt nun, und dies ist wesentlich und wurde auch schon von Perez betont, auch frisch aus dem Ozaenasekrete gezüchtete Stämme, die in der Kultur den typischen Gestank vollständig vermissen lassen, analog, wie es auch Proteus- oder Coli-Stämme gibt, die Eiweißnährböden nicht unter Gestank zersetzen. Ich habe diese Beobachtungen einige Male gemacht, und deshalb ist das Kriterium über das Vorhandensein des Coccobacillus Perez bloß nach dem Geruch der flüssigen Mischkulturen von Ozaenakrusten zu eng gefaßt, genau so wie die Identifizierung der Kolonien durch die Agglutination allein; es ist vielmehr notwendig, alle farblosen, nicht schwärmenden, auf der Mannitplatte farblos gewachsenen Kolonien auf die charakteristischen kulturellen Merkmale zu untersuchen, die die Gruppe der Perez-Bazillen als solche wohlcharakterisieren, und sie von den sonstigen Saprophyten der Nasenschleimhaut gut unterscheiden läßt.

Möglicherweise liegt vielleicht in dem öfters beobachteten Mangel der Gestanksbildung mancher Stämme mit ein Moment zur Erklärung, weshalb in manchen Perioden der Erkrankung gar kein oder nur ein geringer Foetor besteht, und zwar trotzdem sich in solchen Fällen Proteus-Bazillen meist und in genügend reichlicher Zahl nachweisen lassen, die, zu Kulturen verarbeitet, den dem Proteus eigenen Gestank deutlich aufweisen.

Die Filtrate der Bouillonkulturen sind giftig, das Gift selbst ist ziemlich labil. Der erste, welcher die Giftigkeit der Filtrate nachwies, war Hofer. Bouillonkulturen, die mit frischen Stämmen geimpft und 4—6 Tage bebrütet worden sind, ergeben, durch Reichelkerzen filtriert, ein Gift, das Kaninchen von 1—2 kg bei intravenöser Einverleibung von 0,5—1 ccm tötet. Der Tod der Versuchstiere erfolgt gewöhnlich 1—2 Tage nach der Injektion, doch auch nach 3—6 Tagen, und dann treten häufig dieselben Lähmungen und Paresen auf, wie wir sie manchmal bei chronischem Verlaufe der Infektion sehen. Besonders die Hinterbeine werden befallen, es kommen aber auch allgemeine Lähmungen, insbesondere auch der Hals- und Nackenmuskulatur, vor. Der Sektionsbefund ist insofern interessant, als er sich bis ins Detail mit demjenigen nach der Infektion mit Bazillen deckt. Schon während des Lebens können starke nasale Reaktionen mit vermehrter Sekretion auftreten, und die Sektion zeigt besonders die Schleimhaut der Muscheln stark hyperämisch, oft findet sich aus-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

getretenes Blut im freien Nasengange selbst vor. Im Perikard findet sich ein seröser bis blutig-seröser Erguß, die Thymus, die strotzend mit Blut gefüllt ist, erscheint durch Ekchymosen gefleckt, und solche Ekchymosen finden sich manchmal auch in Herz, Lunge und Leber. Auch im Dünndarm sind Blutungen zu sehen; die Payerschen Plaques sind geschwollen und injiziert, ohne daß dieser Befund jedoch konstant wäre.

Dieser gleichlautende Sektionsbefund nach tödlicher Infektion lebender Bazillen und nach solcher mit vorsichtig abgetöteten Abschwemmungen oder nach Injektion giftiger Kulturfiltrate dieser Bazillen legt von selbst die Vermutung nahe, daß es sich auch bei der Infektion um eine Giftwirkung handelt, der die Versuchstiere in letzter Linie erliegen, und für diese Annahme sprechen auch die in beiden Fällen manchmal zur Beobachtung gelangenden Paresen und Lähmungen.

Über die Natur dieses Giftes habe ich meine Untersuchungen noch nicht abgeschlossen; es haftet auch am Bakterienleibe selbst, vielleicht nach der Art der intrazellulären Gifte überhaupt, und dafür spricht die hohe Giftigkeit abgetöteter Bazillenemulsionen.

Jedenfalls gelingt aktive Immunisierung der Kaninchen gegen Reinjektionen größerer Giftmengen, und Meerschweinchen konnte ich in 4 Fällen nach vorangegangenen Toxininjektionen gegen nachfolgende Infektion insofern schützen, als 2 Tiere am Leben blieben und 2 um 1—3 Tage später starben als die Kontrolltiere. Dazu muß erwähnt werden, daß Meerschweinchen, die mit virulenten Stämmen injiziert werden, die Infektion nur sehr selten überleben, dann aber allerdings Immunität gegen nachfolgende Injektionen erworben haben. Eine Ziege, die auf die beiden ersten Injektionen von Kulturfiltraten sichtlich erkrankte, lieferte kein antitoxisches Serum, ebensowenig 2 mit Filtraten behandelte Kaninchen. Es ist mir also bisher, allerdings in einer beschränkten Versuchsreihe, nicht gelungen, ein antitoxisches Serum herzustellen, weshalb ich auch noch nicht sicher bin, ob wir ein echtes Toxin vor uns haben. Jedenfalls aber ist es ein Bakteriengift, das sich wesentlich von giftigen im Nährboden entstehenden Abbauprodukten, wie etwa dem Sepsin usw., unterscheidet, denn dafür spricht nicht nur das zwischen dem Zeitpunkte der Injektion und dem Eintreten des Todes liegende Zeitintervall, sondern auch, und ganz besonders, die häufig während des Lebens zu beobachtenden schweren Schädigungen, wie Lähmungen, Paresen usw. Diese nachweisliche Giftwirkung der Kulturfiltrate scheint eben eine gefäßschädigende, neurotoxische zu sein, und besonders giftempfindliche Organe sind die Drüsen, besonders die Thymus, ferner die Gefäße und das Nervensystem. Am Herzen finden sich manchmal Ekchymosen und immer blutigseröse Flüssigkeit im Perikard. Die Leber ist gestaut und häufig zeigen sich ausgedehntere Blutungen und Ekchymosen auf ihrer Oberfläche und im Gewebe selbst.

Wenn ich am Schlusse meine Befunde zusammenfassend überprüfe, so komme ich zu dem Resultate, daß sich im Sekrete der Ozaenakranken sehr häufig eine Bazillenart vom Typus des Coccobacillus foetidus ozaena Perez nachweisen läßt, die kulturell vollkommen in sich abgeschlossen erscheint und für kleinere Versuchstiere, besonders das Kaninchen, sehr pathogen ist. Es gelingt, im Tierversuche den Nachweis zu erbringen, daß diese Bazillen, in die Blutbahn eingespritzt, in der Nase ausgeschieden werden und eitrige Entzündungen derselben

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hervorrufen können. Aber auch die Kulturfiltrate dieser Bazillen sind für kleinere Versuchstiere, besonders das Kaninchen, giftig, und verursachen ganz ähnliche pathologische Veränderungen, wie die, welche nach stattgehabter Infektion in Erscheinung treten. Wenn der Ausfall dieser Versuche auch Schwankungen unterliegt, insbesondere von der Individualität der Versuchstiere, der Dosierung und der Virulenz der einzelnen Stämme abhängt, so ist der positive Ausfall doch häufig genug, um ihn als bestehend anerkennen zu dürfen.

Diese Schlußfolgerungen, die ich aus meinen Ergebnissen ziehen kann, scheinen mir sehr im Sinne der von Perez aufgestellten Theorie zu sprechen, daß die genuine Ozaena eine Infektionskrankheit sei, hervorgerufen durch den von ihm entdeckten und beschriebenen Coccobacillus foetidus ozaenae Perez.

Daneben muß allerdings auch dem von mir beschriebenen Gelatine verflüssigenden Bazillus eine gewisse Rolle in der ganzen Ozaenafrage zuerkannt werden, einer Bazillenart, die möglicherweise schon frühere Untersucher in Händen gehabt haben, die ich aber, im Gegensatze zu diesen, vor allem wegen der beobachteten hohen Tierpathogenität und dem in den Kulturen vollkommen fehlenden Schwärmvermögen von Proteus abgetrennt wissen möchte. Andererseits aber unterscheidet sich dieser Bazillus durch sein Verhalten auf Gelatine vom typischen Perez-Bazillus wieder so wesentlich, daß ich ihn als B. foetidus ozaenae liquefaciens im Gegensatze zum Perezschen Bazillus bezeichnen möchte.

Ich entnehme eben bei Abschluß meiner Arbeit, durch einen Kollegen aufmerksam gemacht, einem Referate (die Originalarbeit ist mir nicht zugängig), daß von Henri Horn und Ernst Albrecht Viktor aus St. Franzisko unter 343 Ozaenafällen 126mal, und unter 76 Parozaenafällen 22mal ein Gelatine verflüssigendes Stäbchen gefunden wurde, das die genannten Autoren B. rhinosepticus nennen, und das sie außerordentlich nahe dem Bac. bronchosepticum stellen. Sie fanden es in der Nase der Hunde und halten eine Uebertragung vom Hund auf den Menschen für wahrcheinlich. Die Heilerfolge bei mit ihrer Vakzine behandelten Kranken waren sehr gute.

Da mir dieses B. rhinosepticum zum Vergleiche nicht zur Verfügung steht, habe ich diese mit dem B. bronchisepticus Ferri aus der Kràlschen Sammlung durchgeführt. Dieser Bazillus zeigt war auf den Barsiekowschen Differenzialnährböden, im Peptonisierungsvermögen der Milch usw. ein ganz ähnliches Verhalten, wie der von mir beschriebene B. foetidus ozaenae liquefaciens, aber die Gelatine wird von ihm viel intensiver und stets auch vom Stichkanale aus, wie bei Proteus vulgaris, verflüssigt. Die Agarkulturen, ganz besonders Stichkulturen, sind viel derber wachsend und weißlicher gefärbt. Mit diesem Stamme hergestellte agglutinierende Immunsera beeinflussen weder meine Stämme, noch agglutinieren umgekehrt die Immunsera dieser Stämme den B. bronchosepticus.

Es ist ja nun nicht ohne weiteres möglich, von diesem Umwege heraus festzustellen, ob der von den genannten Autoren gefundene Stamm B. rhinosepticus mit meinem B. foetidus liquefaciens identisch ist oder nicht, und da mir die Möglichkeit fehlt, beide Stämme vergleichend zu prüfen, sei diese Tatsache lediglich hervorgehoben.

Was schließlich die Frage betrifft, inwieweit dieser B. foetidus ozaenae liquefaciens in ursächlicher Beziehung zur Aetiologie der Ozaena gebracht werden darf, so sind hierfür dieselben Argumente, die ich als stützend für die Perezsche Theorie auf Grund meiner Befunde anführen könnte, maßgebend und auch zutreffend. Die ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

flüssigende Form wurde aber seltener als der Coccobacillus Perez und niemals vergesellschaftet mit diesem im Sekrete Ozaenakranker von mir angetroffen, sondern stets die eine oder die andere Form für sich allein.

Ob diese Befunde weiterhin vielleicht für die klinische Unterscheidung der Ozaena einmal von Bedeutung werden können, vermag ich zurzeit nicht zu entscheiden; dies bleibt späteren Untersuchungen vorbehalten [1]).

Literatur.

Amersbach, Arch. f. Laryngol. Bd. 31. H. 2. — Ders., Ibid. Bd. 32, H. 2. — Burghardt u. Oppikofer, Ibid. Bd. 30. H. 1. — Chiari, Ibid. Bd. 31. H. 3. — Demetriades u. Montussis, Monatsschr. f. Ohrenh. u. Laryngol., Festschr. Hayek. — Grünwald u. Waldmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911. S. 337. — Hofer, Wien. klin. Wochenschr. 1913. Nr. 25. — Ders., Ibid. 1913. Nr. 52. — Ders., Arch. f. Laryngol. Bd. 31. H. 1. — Ders., Ibid. Bd. 32. H. 2. — Ders., Monatsschr. f. Ohrenheilk. 1921. — Hofer u. Kofler, Wien. klin. Wochenschr. 1913. Nr. 42. — Dies., Arch. f. Laryngol. Bd. 29. H. 1. — Dies., Wien. klin. Wochenschr. 1916. — Hofer u. Sternberg, Arch. f. Laryngol. Bd. 33. H. 2. — Kuttner, Ibid. Bd. 31. H. 2. — Neufeld, Ibid. Bd. 30. H. 3. — Perez, Annal. Inst. Pasteur. 1899. — Ders., Trav. d. l'Inst. Nat. de Bacteriol., Buenos Aires. 1901. — Polatschek, Monatsschr. f. Ohrenheilk., Festschr. f. Hayek. — Saffranek, Med. Klin. 1914. — Salomonsen, Arch. f. Laryngol. Bd. 30. H. 3. — Shiga, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. H. 7 u. 8. — Sternberg, Ztschr. f. Hals-, Nasen- u. Ohrenkr. 1922. H. 1 u. 2.

Nachdruck verboten.

Ueber postmortale Spirochätenvermehrung in der Leiche.

[Aus dem Pathologischen Institut beim Stadtkrankenhause Mainz (Leiter: Prof. Dr. Gg. B. Gruber).]

Von Dr. **Ernst Kratzeisen** (Mainz).

Um die Frage der Vermehrungsfähigkeit der Lueserreger in der Leiche beantworten zu können, habe ich an 6 luetischen Leichen Untersuchungen angestellt. Und zwar ging ich folgendermaßen vor: Sofort nach der Sektion, die ich möglichst bald nach dem Tode vornahm, entnahm ich Leberstückchen, die teils in steriler Galle, in Bouillon, Wasser, Kochsalzlösung, und trocken bei 37° im Brutschrank aufbewahrt wurden, nachdem durch Prüfung im Dunkelfeld die Anwesenheit lebender Treponemen sichergestellt war. Von allen bebrüteten Stückchen entnahm ich nach 12, 24, 36, 48, 72 Std. Proben, härtete dieselben, bettete sie in Paraffin ein und versilberte das Material nach der Methode von Levaditi. Kurz will ich die einzelnen Fälle und ihre Ergebnisse folgen lassen:

1) Nr. 4 — 324. F. F. 5. Sept. 1921. 4 Wochen alt.
Klinische Diagnose: Lues congenita.
Pathologisch-anatomische Diagnose: Typische Papeln rings um Mund und After, an beiden Armen und Beinen. Große Leber. Keine Entwicklungsanomalien. Blut in der rechten Schädelgrube.

1) Ich benutze hier die Gelegenheit, Herrn Oberinspektor des Institutes, Privatdozenten Dr. B. Busson für dessen Anleitung meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fall I. (Spirochäten primär ++. Zahlreiche Nesterbildungen.)

	12 Std.	24 Std.	36 Std.	48 Std.	72 Std.
Trocken bebrütet	++	++	++	Beginnender Zerfall	Zerfall
Galle	+++	++++	+++	Beginnender Zerfall	„
Bouillon	+++	++	Beginnender Zerfall	Zerfall	„
Kochsalz	++	++	Beginnender Zerfall	„	„
Wasser	++	++	Beginnender Zerfall	„	„

2) Nr. 14 — 334. M. J. 10. Sept. 1920. 1 Jahr alt.
Klinische Diagnose: Lues congenita.
Pathologisch-anatomische Diagnose: Multiple Hautabszeßchen. Haselnußgroßer subkutaner Nekroseherd im rechten Gesäßteil. Feuersteinleber. Vergrößerte Milz. Starke Dilatation des Magens. Allgemeiner Marasmus und Anämie.

Fall II. (Spirochäten primär ++.)

	12 Std.	24 Std.	36 Std.	48 Std.	72 Std.
Trocken bebrütet	++	++	++	Zerfall	Zerfall
Galle	++	+++	++	Beginnender Zerfall	„
Bouillon	++	++	Zerfall	Zerfall	„
Kochsalz	++	++	„	„	„
Wasser	++	Beginnender Zerfall	„	„	„

3) Nr. 39 — 399. M. E. 27. Okt. 1921. 4 Wochen alt.
Klinische Diagnose: Lues congenita.
Pathologisch-anatomischer Befund: Hochgradige allgemeine Hypertrophie. Große Leber und Milz. Hautulzerationen an den äußeren Geschlechtsteilen und der rechten Brustseite.

Fall III. (Spirochäten primär +++.)

	12 Std.	24 Std.	36 Std.	48 Std.	72 Std.
Trocken bebrütet	+++	++++	+++	Beginnender Zerfall	Zerfall
Galle	+++	++++	++++	+++	„
Bouillon	+++	+++	Beginnender Zerfall	Zerfall	„
Kochsalz	+++	+++	Zerfall	„	„
Wasser	+++	Beginnender Zerfall	„	„	„

4) Nr. 42 — 489. ? ♀. 16. Dez. 1921. Totgeboren.
Klinische Diagnose: Frühgeburt.
Pathologisch-anatomischer Befund: Teilweise mazerierter weiblicher Fötus. Vollständige Atelektase beider Lungen. Aszites. Pleuraergüsse. Außerordentlich große Leber. Stark vergrößerte Milz. Allgemeine Fäulnis.

Fall IV. (Spirochäten +++.)

	12 Std.	24 Std.	36 Std.	48 Std.	72 Std.
Trocken bebrütet	+++	Beginnender Zerfall	Zerfall	Zerfall	Zerfall
Galle	++++	++++	Beginnender Zerfall	„	„
Bouillon	+++	Beginnender Zerfall	Beginnender Zerfall	„	„
Kochsalz	+++	Zerfall	Zerfall	„	„
Wasser	+++	„	„	„	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

5) Nr. 34 — 83. H., ♀. 18. Febr. 1922. 4 Tage alt.
Klinische Diagnose: Mutter syphilitisch.
Pathologisch-anatomischer Befund: 47 cm langes Kind mit Zeichen der Reife. Icterus neonatorum. Keine Papeln. Mäßige Milzvergrößerung. Mäßige Lebervergrößerung. Eitrige Bronchitis und Bronchopneumonie beider Lungen.

Fall V. (Spirochäten primär +++.)

	12 Std.	24 Std.	36 Std.	48 Std.	72 Std.
Trocken bebrütet	+++	+++	+++	Beginnender Zerfall	Zerfall
Galle	++++	++++	++++	+++	„
Bouillon	+++	+++	Beginnender Zerfall	Zerfall	„
Kochsalz	+++	+++	Zerfall	„	„
Wasser	+++	+++	„	„	„

6) Nr. 38 — 326. B. A. 24. Juli 1922. 8 Wochen alt.
Klinische Diagnose: Lues congenita.
Pathologisch-anatomischer Befund: Sehr große Leber und Milz. Verwaschene Knochenkerne. Verjauchte Gummata an der rechten Körperseite und am linken Ohr. Ausgesprochene Sattelnase. Hochgradige allgemeine Atrophie und Anämie.

Fall VI. (Spirochäten +++ Nester nachgewiesen.)

	12 Std.	24 Std.	36 Std.	48 Std.	72 Std.
Trocken bebrütet	++++	++++	+++	Beginnender Zerfall	Zerfall
Galle	++++	+++++	+++	+++	„
Bouillon	+++	++++	Beginnender Zerfall	Zerfall	„
Kochsalz	+++	+++	Beginnender Zerfall	„	„
Wasser	+++	Beginnender Zerfall	Zerfall	„	„

Wir sehen also aus dieser Zusammenstellung, wie zu erwarten, daß sich die Spirochäten noch längere Zeit lebend erhalten, was man ja auch schon aus Unglücksfällen in Laboratorien gelernt hat. Es lassen sich nach 12 und 24 Std. Zeichen einer mäßigen Vermehrung der noch gut färbbaren und intakten Spirochäten feststellen. Niemals sahen wir aber vermehrte Zopf- oder Nesterbildungen. Waren über-Optimum für die postmortale Vermehrung der Spirochäten etwas später Nach 48 Std. trat ein allmählicher Zerfall der Spirochäten ein und noch später waren nur noch Bruchstücke nachweisbar. Vor allem aber, und das ist wohl mit das Wichtigste, konnten wir diese Beobachtungen am sichersten und deutlichsten an denjenigen Stückchen erkennen, die in Galle bebrütet wurden. Nach 12 Std. war auch in den trocken bebrüteten Stückchen eine leichte Vermehrung zu konstatieren. Die Autolyse setzte in den Teilchen, die in Wasser, Bouillon und Kochsalz aufbewahrt wurden, am schnellsten, oft schon nach 12 Std. ein. In Betracht ziehen müssen wir aber noch, daß auch die Sektion immerhin einige Std. nach dem Tode vorgenommen wurde, so daß also das Optimum für die postmortale Vermehrung der Spirochäten etwas später, als in den Listen angegeben, gelegt werden muß.

Wir kommen zu folgendem Schluß: Die Zahl der Spirochäten in den Organen, vor allem in der Leber, zeigt 12—24 Std. nach dem Tode

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

unter geeigneten Verhältnissen, wie sie auch in der Leiche eintreten können, eine Tendenz zur mäßigen Vermehrung. Ein absoluter Schluß läßt sich aus der Anzahl der postmortal gefundenen Spirochäten auf die Schwere der Infektion nicht ziehen. Sind Zopf- und Nesterbildungen nachweisbar, so ist wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß dieselben auch im Leben, bzw. in der Agonie vorhanden waren.

Andererseits läßt sich aber diese Methode vielleicht auch als Anreicherungsmittel für den Spirochätennachweis verwenden. Findet man primär keine Syphiliserreger, und handelt es sich um Lues, so kann man versuchen, ob man nach 12, 24 oder 48-stünd. Bebrütung in steriler Menschengalle evtl. doch noch solche finden und so die fragliche Diagnose präzisieren und einwandfrei bestätigen und sichern kann. Ein Tierversuch, den man zur Bestätigung der Diagnose ausführen könnte, ist sehr unsicher; auch verstreicht viel mehr Zeit, bis man ein Urteil abgeben kann, das bei der Unsicherheit der tierischen Reaktion recht zweifelhaft sein wird, wenn das Resultat negativ ausfällt.

Nachdruck verboten.

Encephalitis bei experimenteller Trypanosomiasis.

[Laboratorium der 1. chirurgischen Klinik der kgl. Universität zu Neapel.]

Von Prof. Dr. **Mario Battaglia.**

Aus meiner letzten Mitteilung im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. H. 5 „Histologische Veränderungen in den Organen an experimenteller Trypanosomiasis verendeter Tiere“ geht hervor, daß „sowohl die Dura wie die Pia des Gehirns und Rückenmarkes stark hyperämisch und sämtliche Gefäße verdickt und mit Lymphoidzellen infiltriert sind. Diese Infiltration setzt sich in die Kapillaren der Nervensubstanz fort. Sämtliche Gefäße, besonders die arteriellen, zeigen die Intima verdickt. Sehr in die Augen fallend ist der Raum um die Nervenzellen, bei denen sich die Kerne in Chromatolyse befinden und die Nisslschen Granula wenig färbbar sind. Keinerlei Veränderung beobachtet man an den Myelinfasern und an den Achsenzylindern, auch an den peripheren Nerven, deren Perineurium und Endoneurium sich jedoch verdickt und mit den oben beschriebenen lymphoiden Elementen infiltriert zeigt.“

Bei Untersuchung der Schnitte des Gehirnes, Windungen und Zentralsubstanz, eines jeden an experimenteller Trypanosomiasis, hervorgerufen durch Trypanosoma vespertilionis (Tryp. Battaglia), Tryp. Lewisi, Tryp. Brucei, Tryp. dromedarii, Tryp. gambiense verendeten Tieres, wobei auf verschiedene Weise gefärbt wurde (mit Giemsa, mit Unnaschem Polychromblau und Beizung mit wäßriger Gerbsäurelösung, nach dem Verfahren von Ehrlich-Gram und anschließender Differenzierung mit Apathy oder nach van Gieson oder unter alleiniger Behandlung der Schnitte mit Lugolscher Lösung), werden in dem Raum um die Nervenzellen, so wie oben erwähnt, oder innerhalb der Nervenzellen, deren Kern ebenso wie auch ihr Proto-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

plasma stets in Chromatolyse angetroffen wird, mehr oder weniger große, einfache oder multiple, nach der angewandten Methode entweder intensiv blau oder violett oder rosa oder kastanienbraun gefärbte, runde Körperchen beobachtet, die diplokokkenartig, kranzförmig oder traubenförmig angeordnet sind, die Gestalt eines Biskuits, einer Keule oder eines Stäbchens aufweisen und an die bei der Tollwut und von anderen bei der Staupe beschriebenen Negrischen Körperchen erinnern. Diese Körperchen, die man in den mikroskopischen Encephalitispräparaten bei experimenteller Tryanosomiasis sieht, haben scharfe, runde Konturen, sind kranzförmig angeordnet oder derartig zusammengehäuft, daß sie eine intensiv gefärbte größere Gruppe von runder oder ovaler Form innerhalb oder außerhalb der Zelle bilden, und werden nicht nur in der veränderten Nervenzelle, sondern auch in dem diese umgebenden hellen Raum beobachtet und bei allen mikroskopischen Befunden der an experimenteller Trypanosomiasis verendeten Tiere in dem ganzen Gefüge des Zentralnervensystems zerstreut angetroffen, so wie Rißling und J. Koch im Zentralnervensystem toller Hunde beschrieben haben (Rißling und J. Koch, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 65. 1910. S. 85; J. Koch, ebenda. Bd. 66. 1910. S. 413).

Den von mir konstant im Zentralnervensystem an Trypanosomiasis verendeter Tiere angetroffenen Befund halte ich für wichtig nicht allein in bezug auf die Trypanosomiasisarten, sondern auch für all jene Infektionen, die, sich im Zentralnervensystem lokalisierend, wie die Trypanosomiasisarten, mehr oder weniger starke Hyperämien und lymphoide Infiltrationen mit deutlichen strukturellen Läsionen der Nervensubstanz hervorrufen.

Die erheblichen Alterationen der Nervenzelle des Gehirns und des Rückenmarkes und diese verschiedenartig zerstreuten, mehr oder weniger verschieden gefärbten Körperchen in der ganzen Substanz des Zentralnervensystems der an Trypanosomiasis verendeten Tiere zeigen die Auflösung der Nervensubstanz in ihren verschiedenen Phasen an, die daher auf die angewendeten Farben verschieden reagiert.

Keines dieser Körperchen jedoch erinnert, sei es durch die Form oder die Anordnung und auch durch die Reaktion auf die Farbe, an irgendeine der von mir in den evolutiven oder in den involutiven oder degenerativen Phasen der Trypanosomen beschriebenen und angetroffenen Formen (Due Trypanosomi, Tryp. vespertilionis e Tryp. Lewisi, Ann. di Med. Nav. A. X. Vol. 2. Fasc. 5. 1904). — Trypanosoma vespertilionis. Ricerche fatte nel Laboratorio di Anatomia normale della R. Università di Roma ed in altri Laboratori biologici. Vol. 12. Fasc. 1. 1906. — Sporulärer und asporulärer Zyklus des Trypanosoma nagana. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. H. 3).

Es ist zweckmäßig, an zwei Erscheinungen zu erinnern, eine klinische nämlich und eine pathologisch-anatomische. Klinisch zeigen Tiere mit Trypanosomiasis, Staupe oder Tollwut und der Mensch bei diesen nämlichen Infektionen und bei den besonders ihm eigenen, also der Syphilis cerebralis und der Encephalitis lethargica, analoge Symptome von Alterationen des Zentralnervensystems.

Pathologisch-anatomisch sind die Läsionen des Zentralnervensystems der Tiere und des Menschen bei diesen Infektionen mehr oder weniger gleichwertig und zeigen eine schwere Schädigung nicht nur der Gefäße und des Bindegewebes, sondern auch des Protoplasmas und des Kernes der Nervenzelle an, die in vollständiger Auflösung begriffen ist. Diese so

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

veränderte Zellsubstanz zeigt verschiedenes Aussehen nach Form und Reaktion auf die Farben und nimmt manchmal Gestaltungen an, die an Formen von bekannten Mikroorganismen erinnern. Dieses Aussehen jedoch hat, wenn es auch manchmal eine praktische diagnostische Bedeutung erlangt wie im Fall der Tollwut, keine Beziehungen zu evolutiven oder involutiven Phasen des Krankheitserregers, und bisher sind alle Vermutungen, die angestellt werden oder angestellt werden können, ohne tatsächliche Unterlagen.

Nachdruck verboten.

Bemerkung zu der Arbeit von Karl Hesselbach:

Die trypanozide Wirkung von „Bayer 205" auf Trypanosoma equiperdum.

Bd. 89. H. 4/5. S. 48 dieser Zeitschrift.

Von Prof. **Martin Mayer,** Hamburg.

Diese aus Pfeilers Institut hervorgegangene Arbeit, die sich mit der Einwirkung von „Bayer 205" in vitro und in vivo auf Trypanosomen beschäftigt, bringt sehr eingehende, seitenlange Besprechungen von der Geschichte der Trypanosomen und der Technik des Blutausstreichens sowie der Giemsa-Färbung an bis zu Versuchsprotokollen eines von Pfeiler behandelten Pferdes und anderes mehr, das mit dem Thema nur lose in Zusammenhang steht. Es fehlt dagegen merkwürdigerweise jeder Hinweis auf die von Zeiß und mir 1920 im Arch. f. Schiffs- und Tropenhyg. Bd. 24. S. 257 veröffentlichten Beobachtungen der „205"-Wirkung auf Trypanosomen im Tierkörper. Unsere Arbeit ist allerdings zitiert, aber unter den Worten: „Sie fassen ihre Ergebnisse, wie folgt, zusammen" folgt eine willkürliche Zusammenstellung aus Teilen unserer Zusammenfassung, die sich auf fernerstehende Punkte beziehen, und dann 3 Protokolle unserer „in vitro-Versuche" — die gar nicht in unserer Zusammenfassung stehen — im Anschluß an unseren Satz „in vitro hat das Mittel keinerlei schädigende Wirkung auf Trypanosomen".

Der in unserer Zusammenfassung unmittelbar auf letzteren Satz folgende Passus: „Im Tierkörper zeigt sich eine Schädigung und Behinderung der Teilungsvorgänge, die Ehrlich als Ursache der Wirkung verschiedener Mittel angenommen hatte, und die hier mikroskopisch durch die Verhinderung der Trennung der neugeteilten Trypanosomenkörper sichtbar gemacht werden konnte" fehlt aber vollkommen. Es fehlt ebenso jede Erwähnung der 2 Seiten unserer Arbeit ausfüllenden Einzelheiten über unsere morphologischen Beobachtungen, die sich auf die Teilungshemmung, auf die spätere Pyknose des Kernes und allmähliche Auflösung der Trypanosomen beziehen.

Auch die eingehenden morphologischen Beobachtungen in vivo und vitro aus der ersten „205"-Arbeit — von Haendel und Joetten (Berlin. klin. Wochenschr. 1920. S. 821) — werden völlig ignoriert, obwohl ganz andere Punkte aus deren Arbeit zitiert sind. Ferner ist Schuckmanns in dieser Zeitschrift erschienene Arbeit „Ueber die Einwirkung von Bayer 205 auf Trypanosomen außerhalb des Tierkörpers" Bd. 86. S. 485 überhaupt nicht erwähnt. — Platzmangel kann nach dem Gesagten nicht der Grund dieser Auslassung aller früheren Untersuchungen sein.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bemerkungen über die Anatomie und die Zucht der Nematode Rhabditis pellio.

[Aus dem Pathologisch-anatomischen Institute der kgl. ung. Elisabeth-Universität zurzeit in Budapest (Vorstand: Prof. Dr. Béla v. Entz).]

Von cand. med. **Alexander Puder.**

In seinem 1919 über „Die Entstehung von Granulationsgeschwülsten und Adenomen, Karzinom und Sarkom durch die Larve von Rhabditis pellio Schneider" erschienenen Werke teilt Kopsch seine interessanten Versuche über diese Art mit. Er ermittelte nämlich, daß die mit der Nahrung aufgenommene Larve derselben im Bindegewebe junger Grasfrösche in jedem Falle abgekapselte Wurmknötchen erzeugt, die nach der Umwandlung der Kapsel zu lokal bösartigen Granulationsgeschwülsten werden, aus denen in der Hälfte der Fälle Magenadenome entstehen. Später beobachtete er Metaplasie des Epithels und Bindegewebes in den verschiedenen Organen sowie auch Karzinom- und Sarkomentwicklung. Die für diese Gebilde verantwortliche Nematodenlarve lebt im Organismus des Frosches weiter, entwickelt sich aber gar nicht oder nur in geringem Maße.

Nach diesen Versuchen müssen wir dem Wurm bei der Entstehung der genannten Geschwülste eine pathogenetische Bedeutung zuschreiben. Da zu erwarten ist, daß in der nächsten Zeit auch andere sich mit dieser Frage beschäftigen werden, hielt ich es für angezeigt, kurz über meine Untersuchungen über die Anatomie und Biologie der Rh. pellio, die ich durch Versuche über die pathologische Bedeutung des Parasiten ergänzen werde, kurz zu berichten.

Der Wurm gehört in den Unterstamm der Coelhelminthes, bzw. in die Klasse der Nemathelminthes, welche faden- und spulenförmig sind. Der Körper der Nematoden ist mit einer Chitincuticula bedeckt, welche bei der Rh. pellio glatt ist, bei anderen aber geringelt sein kann. Der Hautmuskelschlauch besteht aus längsgestellten Muskelzellen mit äußerer, kontraktiler Schicht. Jede Muskelfaser sendet einen Protoplasmafortsatz nach den Medianlinien, durch welchen die Verbindung mit den Nervenstämmen hergestellt wird. Zwischen dem Hautmuskelschlauch und dem Darm ist eine mit Cölomflüssigkeit gefüllte Höhle: Cölom. Nach der neuesten Auffassung ist die zur „Körperhöhle" qualifizierte Höhle mit Isolationsgewebe, dem Wesen nach Parenchymgewebe, ausgefüllt, in welches die Sexualorgane und der Verdauungskanal eingebettet sind.

Das Nervensystem besteht aus einem um den Oesophagus gelegenen Nervenring, welcher nach vorn und nach rückwärts Längsnerven entsendet und außer den Nervenfasern auch Ganglienzellen enthält. Die Anhäufung der Ganglienzellen vor der Kloake der Askariden bezeichnen wir als Analganglion.

Als Sinnesorgane fungieren die Mund-, Zervikal- und Analpapillen. Der Verdauungstraktus beginnt mit der Mundöffnung, welche von lippenähnlichen Gebilden umgeben ist, die bei einigen Arten beweglich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sind. Die Mundhöhle ist oft zur Mundkapsel ausgebreitet, in welchem Falle sie eine dicke Chitinmembran besitzt, die in die, der Regel nach 3teilige, enge Speiseröhre führt, welche Muskelfasern besitzt und als Saugorgan fungiert. Nach Einschaltung noch eines kugeligen Gebildes folgt der aus platten, kubischen oder zylindrischen Epithelzellen bestehende Mitteldarm. Der Enddarm ist eng und kurz. Die Speiseröhre und der After sind mit Chitin ausgekleidet; der After liegt vor dem Hinterende.

Die Nematoden sind getrennten Geschlechtes. Wir finden bei beiden Geschlechtern ungeteilte, verschieden dicke Röhrchen, von welchen jedes eine bestimmte Rolle spielt. Bei den männlichen Sexualorganen finden wir nur eine vielfach gewundene Röhre, welche mit einem dünnen, blinden Ende beginnt, das Keimlager (Hoden). Der Hoden setzt sich in den Samenleiter fort, an dem die Samenblase und schließlich der muskulöse Ductus ejaculatorius zu unterscheiden ist, welcher in den Enddarm mündet, also mit ihm zusammen eine Kloake bildet. Als Hilfsorgane der Begattung besitzt der Wurm Chitinstäbchen, die Spikula (1—2); letztere haben ihren Ursprung in drüsigen Säcken an der Dorsalwand der Kloake.

Der weibliche Geschlechtsapparat besteht aus einem einfachen Rohr, dessen sehr dünnes Ende das plasmatische Keimlager enthält. In dem nun folgenden, noch immer sehr dünnen Abschnitt sondern sich die Keimzellen ab. Die sich ablösenden Eizellen gelangen in den sich ziemlich plötzlich als dickeres Rohr anschließenden Uterus; die Fruchthalter vereinigen sich zu einer unpaarigen Vagina und in weiterer Folge umgeben sich die Eizellen nach der Befruchtung mit einer Schale.

Das Resultat der Entwicklung ist der in S-Form gewundene Embryo. Die postembryonale Entwicklung ist je nach der Art der Nematoden verschieden. Eine Form der postembryonalen Entwicklung besteht darin, daß die aus dem Ei herausschlüpfende Larve ins Freie gelangt, auf feuchtem Boden, im Wasser usw. einige Häutungen durchmacht (4) und nun im definitiven Wirt geschlechtsreif wird (Rhabditis-Formen).

Die ersten Beobachtungen über das Vorkommen des Rh. pellio bei Menschen stammen von Scheiber. Er fand einen Rhabditis genitalis genannten Wurm in der Vagina einer an Pyelonephritis, Pneumonie und akutem Darmkatarrh erkrankten Frau.

Oerley, dem wir die erste zusammenfassende Arbeit über die Rhabditiden und über ihre pathologische Bedeutung verdanken, hat 1886 bewiesen, daß es sich im Falle von Scheiber um eine Rh. pellio gehandelt hat, und den Weg gezeigt, durch welchen der Wurm in die Vagina gelangen konnte. Er bewies, daß die Kranke, wie das bei der Landbevölkerung gebräuchlich ist, feuchten Sand auf ihre schmerzenden Körperteile gelegt hat.

Oerley hat später systematische Infektionsversuche mit der Rh. pellio angestellt und mit geschlechtsreifen Exemplaren, Embryonen und Larven dieser Rh. p. Frösche, Mäuse und Katzen gefüttert und außerdem an sich selbst Versuche vorgenommen, indem er im Trinkwasser Tausende dieses Wurmes trank. Im Kote fand er anfangs abgestorbene Exemplare der Rh. pellio, später aber nicht einmal mehr diese. Auch in seinem Allgemeinbefinden zeigte sich keine nennenswerte Veränderung, ebenso fand er nichts Besonderes in den Versuchstieren. Immerhin ist es aber von Interesse, daß die Würmer in der Vagina der Mäuse am Leben blieben und sich weiter entwickelt haben.

Bei Infektionsversuchen können wir die Frösche, wie das Kopsch getan hat, einfach mit Regenwurmbrei, welcher Rhabditiden enthält, infizieren. Aber in der Annahme, daß wir in wesentlich kürzerer Zeit Erfolge erzielen könnten, wenn wir der Nahrung eine Rh. pellio-

Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Kultur zusetzten, suchten wir, möglichst eine Reinkultur davon herzustellen. Auf unsere Bitte gab uns Prof. Kopsch Aufklärung über die Herstellung der Kultur und nach seinen Angaben machten wir die Zucht folgendermaßen:

Ein Wasserglas wird zu $^3/_4$ mit sauber gewaschenem und stark erhitztem Sand gefüllt. Dann wird der nur feuchte, nicht nasse Sand mit abgekochtem Wasser angefeuchtet, worauf man nicht zu große Regenwürmer, die 24 Std. in einem Gefäß mit Wasser gelegen haben, in das Wasser ihren Darminhalt entleeren läßt. Die Regenwürmer werden dann mit einer Schere zu einem feinen Brei zerschnitten, der in eine flache Vertiefung in den Sand gelegt und mit einer dünnen Schicht feuchten Sandes bedeckt wird, worauf man das Glas mit einer Schale zudeckt. Nach 1 Woche wird untersucht, ob Nematoden in dem Brei vorhanden sind, indem etwas von demselben in einem Tropfen Wasser auf einem Objektträger verteilt wird. Finden sich Nematoden, so wird auf die Reste des Breies ein kleines Stückchen Fleisch gelegt, das nach wenigen Tagen von unzähligen Nematoden bedeckt ist. Ist das Fleisch annähernd verbraucht, wird ein neues Fleischstückchen dazu gelegt. Bei Versuchen mit Schweine-, Ochsen-, Säuglingsfleisch und menschlichem Herzmuskel erwiesen sich letztere für die Zucht am geeignetesten, die jahrelang erhalten werden kann, wenn der Sand dauernd feucht gehalten wird. Sind die oberen Schichten zu trocken geworden, so wird wieder etwas abgekochtes Wasser hinzugesetzt. Außer den Nematoden enthält die Zucht zahlreiche Bakterien und Schimmelpilze. Es sei noch erwähnt, daß nicht jeder Regenwurm in seinem Organismus die Rh. pellio enthält. 3mal war mein Züchtungsversuch negativ, und erst beim 4. gelang mir bei Regenwürmern von einem anderen Orte die Zucht.

Die sogen. Reinkultur stellte ich nach den Angaben von Hilgermann und Weißenberg her. Diese benützten zur Nematodenzucht denselben Nährboden, den sie zur Amöbenzucht gebrauchten: 1,5 Agar, 90,0 Wasser und dazu 10,0 g alkalische Bouillon. Nachdem ich den Agar an 3 aufeinanderfolgenden Tagen im Dampftopf je $^1/_2$ Std. sterilisiert hatte, goß ich ihn in sterile Petri-Schalen und beschickte ihn mit Nematoden. 1—2 Wochen nach der Infektion kamen die ersten Nematoden zum Vorschein, die sich auf der ganzen Platte zerstreuten und sich teils oberflächlich, teils in den Agar hineinwühlten. Die geimpften Platten müssen stets auf genügenden Feuchtigkeitsgehalt kontrolliert werden, da nach 3—4 Wochen der Agar austrocknet und die Würmer zugrunde gehen. Um dem vorzubeugen, muß eine infizierte Agarflocke auf eine neue Agarplatte übertragen und so die Erhaltung und Fortpflanzung der Art gesichert werden.

Die Ernährung der Nematoden, die in der Aufnahme rundlicher Schimmelpilze besteht, welche sich auf der Agarplatte neben der Nematode entwickeln, läßt sich sehr gut beobachten. Reinkulturen nach Art der Bakterienkulturen lassen sich nicht herstellen, da sich die Nematoden von den Bakterien ernähren und ihre Entwicklung mit der Ernährung mit den sich vermehrenden Bakterien eng zusammenhängt. Mit Reinkulturen von Bakterien, die übergeimpft werden, kann man die Nematode mit einer gewissen Bakterienart ernähren: gemischte oder zweigliedrige Zucht. Werden anstatt lebender durch Hitze vernichtete Bakterien zur Ernährung der Nematoden dem Agar beigemischt, so erhält man eine sterile Nematodenkultur, in der die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nematoden rein, von jedweden Lebewesen frei, von Platte zu Platte übertragbar sind.

Dabei ist es im allgemeinen gleichgültig, welche Bakterienart auf die Platten behufs Weiterzüchtung der Nematoden übertragen wird. Jedoch vermehrten sich die Nematoden bei Beimpfung der Platten mit hauptsächlich bei 37° C wachsenden Bakterien weniger gut und schnell, als bei solchen mit schon bei 22° C wachsenden. Am besten werden die vom Ausgangsmaterial gewonnenen, reingezüchteten Bakterien verwendet.

Ich habe den von Hilgermann zusammengesetzten Nährboden modifiziert, indem ich auf je 100 g Nährboden noch 8 Tropfen konzentr. Alkali und 2 g Traubenzucker beimengte, wodurch ich erreichte, daß die Agarplatten schon binnen 24 Std. mit Nematoden voll bedeckt waren. Auf diesem Nährboden kann man den Entwicklungsgang der Nematoden ebensogut beobachten, wie auf dem von Hilgermann angegebenen.

Nachdruck verboten.

Zwei Fälle von spontan ohne Ansteckung entstandener, originärer Kaninchensyphilis (Genitalspirochätose).

[Aus dem Hygienischen Institut der Tierärztlichen Hochschule zu Dresden (Direktor: Ober-Medizinalrat Prof. Dr. Klimmer).]

Von Dr. med. vet. Franz Neumann.

Nachdem die originäre Kaninchensyphilis zuerst von Roß und Bayon in England entdeckt worden ist, konnte ihr Vorkommen dann auch durch Arzt und Kerl (1) in Oesterreich, durch Klarenbeck (2) in Holland bestätigt werden. In Deutschland haben ihre Verbreitung Schereschewski und Worms (3), Lersey, Dosquet und Kucynski (4), Ruppert (1) und ich (5) festgestellt.

Damit ist zum 1. Male das Auftreten einer ansteckenden syphilitischen Geschlechtskrankheit in größerem Ausmaß beim Tier bewiesen.

Alle Autoren betrachten die Uebereinstimmung der klinischen Erscheinungen der originären Kaninchensyphilis mit denen der experimentell auf Kaninchen übertragenen menschlichen Lues als außerordentlich groß. Lersey pp. (4) erachtet überhaupt, allerdings entgegen der heute herrschenden Meinung der anderen Autoren, menschliche und tierische Erkrankung als wesensgleich. Schereschewski und Worms (3) bezeichnen die Kaninchenspirochätose als eine exquisite Geschlechtskrankheit wie beim Menschen.

Vollkommene Einmütigkeit herrscht bei allen Autoren über die überraschende Aehnlichkeit der in den Krankheitsprozessen der Kaninchenlues gefundenen Spirochäte mit der Spirochaeta pallida Schaudinn. Nach Ansicht aller sind beide morphologisch in keiner Weise zu unterscheiden. Auch die Kaninchenspirochäte zeigt die steilen, engen Windungen, die gedrechselte, gleichmäßige Form, die Flexibilität im lebenden Zustand und die außerordentliche Zartheit des Dickendurchmessers.

Auch ich konnte völlige Uebereinstimmung der beiden Spirochäten in bezug auf Form, Beweglichkeit und Färbbarkeit feststellen.

Generated on 2019-09-16 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Ganz besonders bemerkenswert aber waren 2, mir zur Verfügung stehende Fälle dadurch, daß es sich beide Male um Erkrankungen handelte, die anscheinend weder kon- noch extragenital, also im wahrsten Sinne des Wortes spontan entstanden waren.

Kasuistik: Fall 1. 10 Mon. alter Rammler, Schwarzloh, rasserein. Die Besitzerin, Frau B., Dresden-Strießen, hat vor etwa 4 Wochen beobachtet, daß das Geschlechtsorgan des Kaninchens stark geschwollen und gerötet war. Da sich der Zustand verschlimmert habe und von anderer Seite der Verdacht auf eine venerische Krankheit ausgesprochen wurde, kam das Tier Anfang Mai zur Untersuchung in die Klinik der tierärztlichen Hochschule.

Befund: Das Praeputium ist hochgradig, um das 3—4fache des Normalen, geschwollen, stark ödematös infiltriert und von blutigrotem Aussehen. Der Penis ist ebenfalls geschwollen. Im Präputialsack befindet sich ein eitriges Sekret, das die Präputialöffnung verklebt. In der Falte zwischen Scrotum und Penis befindet sich rechts eine pfenniggroße, flach-erhabene, ekzematöse Papel mit Borken belegt und auf Druck nässend, links befinden sich mehrere solcher Papeln in einer Gesamtausbreitung von Talergröße. Auch die Oeffnung des Anus ist geschwollen und entleert, gerade während der Untersuchung, mehrere Würmer vom Trichocephalentyp.

Die mikroskopische Untersuchung des Präputialsekrets und des Reizserums aus den Papeln ergibt im Dunkelfeld und im gefärbten Ausstrich Spirochäten, die in jeder Beziehung der Spirochaeta pallida hominis gleichen.

Zur Beurteilung des Infektionsmodus erscheint es besonders bedeutungsvoll, daß das Tier nach den Angaben der Besitzerin bereits im Alter von 3 Mon. abgesetzt und seitdem wie die anderen Stallgefährten in Einzelkäfigen gehalten worden ist. Es ist nie zum Decken benutzt worden und niemals mit den anderen Kaninchen in Berührung gekommen. Da die Tiere in einem festen Schrank etagenweise, immer in 2 Abteilen untergebracht waren, und da dieser Schrank zum Schutze gegen Einbruch mit Flügeltüren versehen und fest verschlossen gehalten wurde, war jeder Verkehr untereinander ausgeschlossen. Zudem ergab eine Untersuchung sämtlicher Stallinsassen, daß keines irgendwelche klinische Merkmale der Genitalspirochätose erkennen ließ, und auch früher haben, nach Aussage der Besitzerin, weder die Mutter der Tiere noch irgendein anderes Kaninchen jemals verdächtige Erscheinungen gezeigt.

Fall 2 kam Ende Mai zur Untersuchung. Es ist eine ältere weiße, rasselose Häsin, ein Versuchstier des Hygienischen Instituts der Tierärztlichen Hochschule. Sie ist infolge einer chronischen Gastroenteritis, verbunden mit starkem Durchfall, ziemlich abgemagert. Die Vulva ist mäßig entzündet und kranzförmig von kleinen Geschwüren umgeben, die mit trockenen Borken belegt sind. Nach Entfernung der Borken wird ein stark blutreiches Serum gewonnen, in dem massenhaft Spirochäten vom Pallidatyp nachgewiesen werden. Eine Wurminvasion konnte bei diesem Kaninchen nicht festgestellt werden. Die übrigen Versuchstiere des Hygienischen Instituts, die in getrennten Stallabteilen gehalten werden, waren frei von irgendwelchen verdächtigen Erscheinungen.

Wenn wir uns die Entstehung dieser Spirochäteninfektion erklären wollen, so müssen wir in Betracht ziehen, daß bei der menschlichen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Syphilisübertragung meist ein Defekt der Schleimhaut oder der äußeren Haut vorhanden sein, bzw. bei der Berührung erzeugt werden muß, damit das Kontagium eine Möglichkeit hat, einzudringen. Auch beim Kaninchen gelang es Schereschewski (3) in vielen Fällen erst dann, eine natürliche kongenitale Infektion zu erzielen, nachdem er den betreffenden Rammlern oder Häsinnen kleine Rhagaden an den Genitalien beigebracht und so ihre natürliche Resistenz örtlich gemindert hatte.

Die Möglichkeit äußerer Verletzungen der Genitalien sind nun gerade beim Kaninchen sehr groß. Lersey pp. (4), Ruppert (1) und Sustmann (6) erwähnen, daß in Laien- und Züchterkreisen die Entstehung der Genitalspirochätose durch „Ueberhitzung", d. h. übertriebenen Geschlechtsgenuß, vermutet wird. Schon der Name Rammler für das männliche Kaninchen und rammeln für koitieren deuten darauf hin, daß der Geschlechtsakt bei den Kaninchen mit einem großen Aufwand von Kraft ausgeübt wird. Es ist also leicht möglich, daß sich hierbei die Männchen oder Weibchen oder bei Begattungsversuchen Gleichgeschlechtlicher (Mucha [7]) diese die Genitalorgane verletzen und dadurch der Infektion eine Eingangspforte öffnen.

Aber auch extragenital ist eine Verletzung der Genitalien möglich. Neben zufälligen Verletzungen ist hier wohl vorzüglich, worauf Sustmann (6) hinweist, das im Anschluß an eine Wurminvasion auftretende Scheuern an der Analgegend (Juckreiz) in Betracht zu ziehen. Hierbei kommt es zu umfangreichen Verletzungen der Genital- und Perinealgegend, die sich zu brombeerähnlichen Wucherungen auswachsen können. Zieht man in Betracht, daß die Geschlechtsorgane des Kaninchens in unmittelbarer Nähe des Anus liegen — beträgt doch die Länge des Perineums kaum $^1/_2$—1 cm — so ist es leicht erklärlich, daß jeder Reiz, der durch das Scheuern auf den Anus ausgeübt wird, auch das Genitale treffen muß. Die Folge sind dann Entzündungen, Abschürfungen und Ulzerationen, die um so schwerer ausfallen und um so schlechter ausheilen werden, je stärker der Juckreiz ist und anhält und je unsauberer die Stallverhältnisse sind. Beides traf im Falle 1 zu. Die Trichocephaleninvasion war eine ganz beträchtliche und die Sauberkeit und Trockenheit des lichtlosen Stalles ließ in hohem Maße zu wünschen übrig, so daß es kein Wunder ist, wenn die verjauchte Streu zahlreichen Mikroorganismen günstige Lebensbedingungen bot, die nun ihrerseits eine Quelle der Infektion für die Stallinsassen werden konnten.

Im Falle 2, wo eine Wurminvasion nicht festgestellt werden konnte, ist vielleicht dem Durchfall eine ursächliche Bedeutung insofern beizumessen, als durch den Zwang zum häufigen Defäzieren sowie durch die beim Durchfall unvermeidliche Beschmutzung der Geschlechtsorgane ein Reiz auf die Perinealgegend ausgeübt wurde, der zu den sichtbaren Veränderungen geführt hat.

Haben wir so die Bedingungen erörtert, die den Weg für eine Infektion frei machen. so wäre jetzt die Frage zu untersuchen, wo die Spirochäten herstammen.

Zunächst kommen saprophytisch bei Mensch und Tier auf der Schleimhaut der Mundhöhle und des Verdauungsschlauches ebenso wie in allen gangränösen und ulzerösen Veränderungen der äußeren Haut Spirochäten der verschiedensten Typen vor, ohne eine pathogene Wirkung auszuüben. Auch ich konnte bei makroskopisch und klinisch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ganz gesund erscheinenden weiblichen Kaninchen refringensähnliche Spirochäten in der Vagina nachweisen, wie denn überhaupt die Vagina des Kaninchens wegen ihrer exponierten Lage, die sie fortwährend mit dem Erdboden bzw. der verunreinigten Streu in Berührung bringt, eine ideale Eintrittspforte und wegen des serösen Exsudates von alkalischer Beschaffenheit einen sehr günstigen Nährboden für alle Arten Mikroorganismen bietet.

Besonders möchte ich auch darauf hinweisen, daß pallidaforme Spirochäten nicht nur in luetischen Prozessen, sondern auch bei harmlosen und nicht luetischen vorkommen (vergl. Lehmanns med. Atlas, Bd. 11 (8) und Handbuch von Kolle und Hetsch (9): die Aehnlichkeit der Spirochaeta pallida mit der pertenuis, denticola und gallina).

Neuerdings hat M. Zuelzer (10) auch freilebende Spirochäten vom Pallida-Typ im Wasser gefunden und nachgewiesen, daß die Pallida, ebenso wie die anderen Spirochäten, keinen starren Erscheinungstyp darstellt, sondern sich durch eine außerordentliche morphologische Variabilität mit Bildung aller erdenklichen Uebergangsformen und durch eine große Anpsassung an das Nährmedium auszeichnet. So ist auch die präformierte Starrheit der Plasmaspirale und das gedrechselte Aussehen nichts stabiles, sondern ändert sich ebenso wie die Teilungsart und -intensität mit dem Medium. In Kulturen ist die Pallida erheblich lockerer und unregelmäßiger, oft mehr Recurrens als Pallida-Typ. Aus diesem Grunde lehnt M. Zuelzer die Sonderstellung der Pallida und ihre Bezeichnung als Treponema ab.

Auf die Wandelbarkeit der Pallida hat Schereschewski (11) schon früher bei seinen Reinzüchtungsversuchen hingewiesen. Hier nahm sie Refringens-Charakter an. Shmamine (12) hält diesen Typ nach seinen Züchtungsergebnissen überhaupt für eine Entwicklungsform der Pallida. M. Mayer (13) hat durch zahlreiche Versuche festgestellt, daß die Regelmäßigkeit der Windungen, die Flexibilität und die Färbbarkeit bei verschiedenen Luesfällen verschieden ist. W. H. Hoffmann (14) erzielt in 2 Jahren von vielen 1000 Kulturen nur 10 sichere Stämme, und die Morphologie der Kulturspirochäten war charakterisiert durch eine große Vielgestaltigkeit in bezug auf Länge und Dicke, Verschiedenartigkeit der Windungen, so daß sich außer dem Pallida-Typ auch noch ein Refringens-Typ, je nach dem Alter der Kultur, entwickelte. Auch die Färbbarkeit und Beweglichkeit änderte sich und die Pathogenität nahm beträchtlich ab. Aehnliches bestätigt Noguchi (15).

Das Vorkommen freilebender Spirochäten vom Pallida-Typ nach M. Zuelzer konnte ich durch Untersuchungen an den Wasserleitungshähnen und Ausgußbecken des Hygienischen Instituts der Tierärztlichen Hochschule bestätigen. Weiterhin konnte ich erstmalig Spirochäten vom Refringens-Typ im Dung der Kaninchenställe und saprophytisch in der Vagina völlig gesunder Tiere feststellen. Auf Grund der mehrfach belegten Tatsache des Vorkommens von Spirochäten des Pallida-Typs in der freien Natur ist die Möglichkeit der Infektion auch gesunder, **einzeln** gehaltener Tiere wohl zu erklären.

Um nun zu prüfen, ob die vermutete Infektion einer nicht luetischen Wunde durch Pallida-Spirochäten bei einem Einzeltiere

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

möglich ist, wurde ein absolut gesundes, spirochätenfreies, weibliches Kaninchen aus dem Bestand des Hygienischen Instituts der Tierärztlichen Hochschule völlig von den anderen Tieren abgesondert und in einem seit Jahren nicht benutzten Etagenkäfig über dem Erdboden untergebracht. Dem Tiere wurde dicht neben der Vulva eine kleine Wunde beigebracht. Aus dieser Wunde wurde täglich zwecks Untersuchung im Dunkelfeld und im gefärbten Ausstrich Sekretflüssigkeit entnommen, wodurch gleichzeitig verhindert wurde, daß die Wunde zuheilte.

Die Untersuchung ergab am 4. Tage neben einer außerordentlich vielgestaltigen bakteriellen Verunreinigung der Wunde die ersten Spirochäten vom Refringens- und Buccalis-Typ. Vom 5. Tage an konnten auch vereinzelte Uebergangsformen zum Pallida-Typ festgestellt werden. Vom 10. Tage ab wurden einwandfreie echte Pallida-Formen im Dunkelfeld nachgewiesen, und später glückte es auch, diese im gefärbten Ausstrich (nach Becker) festzuhalten.

Dieser Versuch zeigt, daß es eine Spirochäte vom Pallida-Typ gibt, die nicht nur durch Ansteckung von Tier zu Tier übertragen wird, sondern die auch selbständig in jeder banalen Wunde auftreten kann. Schon früher hatte man wiederholt (Heim [16]) nach Verimpfung spirochätenfreien Materials (Blut, Sperma, Milch) kranker und gesunder Menschen auf Kaninchen spirochätenreiche Impfeffekte bei diesen Tieren erzeugen können. Dieser paradoxe Ausfall des Tierversuchs dürfte nach meinen Feststellungen über die Möglichkeit der spontanen Ansiedlung von Spirochäten in Wunden des Kaninchens nunmehr seine zwanglose Erklärung finden.

Daß die Spirochäten, nachdem sie sich an die neuen Verhältnisse angepaßt haben, auch, falls die Verhältnisse ihrer Entwicklung günstig bleiben, zu intensiver Vermehrung schreiten und pathogene Eigenschaften erlangen können, ist zwar noch nicht einwandfrei bewiesen, erscheint aber nicht ausgeschlossen.

Die Möglichkeit, daß unter gewissen Bedingungen harmlose, saprophytische Spirochäten sich zu pathogenen weiterentwickeln, wird von M. Mayer (17), Mühlens (17), Uhlenhuth und Zuelzer (18), Doflein (19) und Gotschlich (20) angenommen. Hierher würde auch gehören, was Klimmer (21) über die Infektiosität der Mikroorganismen sagt: „Daß zwischen den Parasiten und Saprophyten keine absolut unübersteigbare Grenze gezogen ist, zeigen auch die Versuche, Saprophyten (z. B. megatherium, mesentericus, subtilis, prodigiosus) die Infektiosität anzuzüchten und umgekehrt den Krankheitserregern ihre Infektiosität zu nehmen."

Was diesen Vorgang bei der Kaninchensyphilitis anbetrifft, so stimme ich ganz mit Lersey (4) überein, wenn er sagt: „Falls wirklich von menschlicher Syphilis unabhängige Spirochäten vom Pallida-Typ beim Kaninchen auftreten, so müßte man auf die saprophytischen Wasserspirochäten Zuelzers zurückgreifen, und das würde zu der Anschauung zwingen, daß der Uebergang derartiger Spirochäten vom saprophytischen zum parasitischen Dasein relativ oft und daher auch leicht erfolgt." — Ich möchte sogar die Vermutung aussprechen, daß die Anpassung gewisser freilebender Formen an fremde Wirtstiere und der Uebergang von Saprophyten zum Parasiten viel schneller vor sich geht, als gemeinhin angenommen wird. Wie aus den Kulturversuchen von Uhlenhuth und Zuelzer (18) hervorgeht, ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mögen sich die Wasserspirochäten durch minimalen Serumzusatz in wenigen Tagen nicht nur morphologisch erheblich zu verändern, sondern auch biologisch beträchtlich zu variieren, so daß auch die Möglichkeit des Uebergangs vom Saprophyten zum Parasiten in ähnlich kurzer Zeit wohl gegeben sein dürfte. Ja, man könnte sich denken, daß die Anpassung, die bei höher entwickelten Tieren Jahre, Jahrhunderte und Jahrtausende erfordert hat, bei den primitiven einzelligen Organismen infolge der kürzeren Generationsdauer nur Stunden, Tage und Wochen bedarf, und daß dieser Vorgang bei den Mikroorganismen täglich wieder in Erscheinung tritt.

Daß die Entstehung aller ansteckenden Krankheiten bei einem Einzelwesen in der eben geschilderten oder dieser ähnlichen Weise vor sich gegangen sein muß, darüber herrscht wohl kaum eine Meinungsverschiedenheit. Die beiden von mir beobachteten Fälle geben einen guten Hinweis, daß dieser Vorgang **auch heute noch** erfolgen kann, und welche Umstände dabei mitwirken.

Literaturverzeichnis.

1) Zitiert nach Ruppert, Berlin. Tierärztl. Wochenschr. 1921. Nr. 42. — 2) Klarenbeek, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 472; Bd. 87. 1921. S. 203; Bd. 88. 1922. S. 73. — 3) Schereschewski u. Worms, Berlin. klin. Wochenschr. 1920. Nr. 48; 1921. Nr. 44. — 4) Lersey, Dosquet u. Kucynski, ebenda. 1921. Nr. 21, 25. — 5) Neumann, Vet.-med. Inaug.-Dissert., Leipzig-Dresden 1922. — 6) Sustmann, Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. 1921. Nr. 25. — 7) Mucha, Vet.-med. Inaug.-Dissert., Wien 1911. — 8) Lehmanns med. Atlanten. Bd. 11. Taf. 25—29. — 9) Kolle u. Hetsch, Die experim. Bakteriologie. 5. Aufl. Bd. 2. 1919. Taf. 66—69. — 10) Zuelzer, M., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1921. H. 6 u. 7. — 11) Schereschewski, ebenda. Bd. 47. 1908. S. 41. — 12) Shmamine, ebenda. Abt. I. Ref. Bd. 54. 1912. S. 551. — 13) Zitiert nach 8. S. 295. — 14) Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 7. 1912. S. 723. — 15) Noguchi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 66. 1918. S. 517. — 16) Heim, Lehrb. d. Bakteriologie. 1918. S. 317. — 17) Wie 14. S. 929. — 18) Uhlenhuth u. Zuelzer, Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1921. H. 6 u. 7. — 19) Doflein, Lehrb. d. Protozoenkunde. 2. Aufl. 1909. S. 313. — 20) Lehrb. d. Mikrobiologie von Friedberger u. Pfeiffer. Bd. 2. 1919. S. 948. — 21) Klimmer, Veterinärhygiene. 3. Aufl. Bd. 1. 1921. S. 330.

Nachdruck verboten.

Beruht die Impf-Gruber-Widal-Reaktion auf denselben physiko-chemischen Momenten wie die unspezifische und geht erstere ebenso parallel der Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten wie letztere?

[Aus der Medizinischen Universitätsklinik Köln, Augusta-Hospital Direktor: Prof. Dr. Külbs).]

Von Dr. Josef Vorschütz, Assistent der Klinik.

Zur Abhandlung dieses Themas setze ich die vor kurzem im Centralblatt für Bakteriologie, Bd. 88, H. 5, erschienene Arbeit „Bakterienagglutination im erkrankten Blute“ (Vorschütz, Jos.) voraus. Danach wurde gefunden, daß bei jeder leichten Entzündung im Serum eine Globulinvermehrung auf Kosten des Albumins eintritt, daß ferner die Globuline auf der einen Seite es sind, die das Zustandekommen der Agglutination bewirken, auf der anderen Seite die Bakterienzellen. Es

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wurde im Anschluß an eine frühere Arbeit von Löwenthal und Bertkau, die im Schwangerenserum in etwa 40 Proz. der Fälle positiven Ausfall der Y-Ruhr-Widal-Agglutination nachweisen konnten, festgestellt, daß 46,2 Proz. schwangerer Frauen diese Reaktion ergaben und daß diese Frauen die Schwangerschaft am besten vertrugen. Der positive Ausfall der Y-Ruhr-Widal-Reaktion wurde parallel gefunden der schnellen Sedimentierung der Erythrozyten und beide Agglutinationsphänomene als identisch angesprochen. Wenn ich im Schwangerenserum nun Flexner-, Y-, Cholera- und Coli-Agglutination nachweisen konnte, aber keine Paratyphus-B- oder Typhus-Widal, so beruht dieses immer auf der noch nicht ausreichenden Globulinvermehrung im Schwangerenserum. Bei allen schweren Entzündungen jedoch, wo man bis zu 90 Proz. Globulinvermehrung hat, wird jeder Bazillus agglutiniert, sowohl Para-B, Para-A, Typhus abdominalis, als auch Shiga-Kruse und die Fleischvergifterbazillen. Da nun von den 52 Fällen, die zur Veröffentlichung kamen, Krankheiten aller Art eingeschlossen sind, selbst auch Typhus abdominalis, so erhebt sich die neue Fragestellung: kann man denn überhaupt einen Typhus-Widal einer wirklichen Typhuserkrankung von einem unspezifischen, also einem durch Pneumonie oder Sepsis bedingten unterscheiden, und ferner, gibt es denn überhaupt eine spezifische Gruber-Widal-Reaktion bei spezifischen Krankheiten?

Bis heute verfüge ich über etwa 120 Fälle, die sämtlich unspezifische Widal-Reaktionen mit den besagten 10 Stämmen ergaben, mindestens in Verdünnungen bis 1:200, ausgenommen sind die letzten 3, die nur bis 1:100 agglutinierten. Die zu den Seren gehörenden Blutkörperchen sedimentierten dann wie üblich in 20—15 Min. Es agglutinierten der Ladung der einzelnen Bakterien nach die Stämme folgendermaßen: Coli, Cholera, > Y, > Flexner, > Para-B. > Typhus abdominalis, Shiga-Kruse, > Gärtner, Breslau. In ein und derselben Spezies von Bakterien hatten wir jedoch Unterschiede in der Agglutinabilität; letztere beruht auf der Verschiedenheit der Stämme und der verschiedenen Ladung der Zellen. Meine heutige Fragestellung lautet, wie bereits oben erwähnt, nun dahin, kann man trotzdem eine spezifische Erkrankung in bezug auf Widal-Reaktion von einer spezifischen unterscheiden und gehen in diesem Falle Widal-Reaktion und Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten parallel?

Aus vorliegendem Grunde entschloß ich mich, Patienten mit Typhusvakzin zu impfen und beide Reaktionen (Impf-Widal und Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen miteinander zu vergleichen. Wenn also früher bei unspezifischen Bakterienagglutinationen, z. B. bei einer Typhus-Widal-Reaktion 1:200 die dazu gehörige Hämagglutination in etwa 20 Min. beendet war, so wollte ich nun untersuchen, ob 8 Tage nach einer Schutzimpfung mit Typhusimpfstoff, wo der Widal positiv ist, die Sedimentierung der dazu gehörigen Blutkörperchen auch wohl in 20—15 Min. einträte, oder ob beide Agglutinationsvorgänge sich voneinander unterscheiden?

Vorversuche.

Es wurden 15 Pat. zu Impfzwecken herangezogen; bei sämtlichen wurde vor der Impfung die Blutkörperchensenkungsprobe angesetzt, ebenso die Widal-Reaktion auf Y- und Flexner-Ruhr, da sonst

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

keine Impfung stattgefunden hatte seit 1 Jahr und eine Flexner- oder Y-Ruhr-Agglutination bei Normalen oder bei leichten Körperverstimmungen 1:100 leicht positiv sein kann. Der Typhus-Impfstoff (Rob. Koch-Institut) wurde mir liebenswürdigerweise von dem Direktor des Hygienischen Universitätsinstituts, Herrn Prof. Dr. R. Müller, zur Verfügung gestellt. Es wurde 0,5 ccm subkutan den Pat. eingespritzt, Temperatur gemessen und 8 Tage später das aus der Armvene entnommene Blut auf Widal und Blutkörperchensenkungszeit hin geprüft. Zur Feststellung der Bakterienagglutination bediente ich mich des Agglutinoskops Kuhn-Woithe oder des Mikroskops.

Tabelle I. Vor der Impfung.

	Blutkörperchensenkung	Flexner	Y	Pa. B	Typhus
1. Bronchitis	3½ Std.	1:50 +	1:50 +	—	—
2. „	3 „	1:50 +	1:50 +	—	—
3. Cystitis	3½ „	1:50 +	1:50 +	—	—
4. Verdacht auf Tbc.?	5 „	—	—	—	—
5. Tabes dors.	2½ „	1:100 +	1:50 +	—	—
6. Angina foll.	3 „	1:50 +	1:50 +	—	—
7. Monarthritis go.	1½ „	1:100 +	1:100 +	—	—
8. Polyarthr. rheum. abgeheilt	1½ „	1:100 +	1:100 +	—	—
9. Ischias	2½ „	1:100 +	1:100 +	—	—
10. Ulcus ventriculi	3 „	1:50 +	1:50 +	—	—
11. Enteritis chronica	2 „	1:100 +	1:100 +	—	—
12. „ „	3½ „	1:50 +	1:50 +	—	—
13. Asthma nervosum	4 „	1:50 +	1:50 +	—	—
14. Ca. oesophag.	50 Min.	1:50 +	1:50 +	1:100 +	—
15. Magenkarzinom	¾ Std.	1:200 +	1:200 +	1:100 +	—

Tabelle II. 8 Tage nach der Impfung mit Typhusimpfstoff.

	Blutkörperchensenkung	Flexner	Y	Typhus
1. Bronchitis	1½ Std.	1:100 +	1:100 +	1:2000 +
2. „	1 „	1:200 ±	1:100 +	1:1000 +
3. Cystitis	2 „	1:100 +	1:100 +	1:2000 +
4. Verdacht auf Tbc.	1½ „	1:200 +	1:200 +	1:6000 +
5. Tabes dors.	1½ „	1:100 +	1:100 +	1:2000 +
6. Angina foll.	1 „	1:200 +	1:200 ±	1:4000 +
7. Monarthr. go.	1 „	1:200 +	1:200 +	1:4000 +
8. Polyarthr. rheum.	75 Min.	1:200 +	1:200 +	1:2000 +
9. Ischias	1 Std.	1:200 +	1:200 +	1:2000 +
10. Ulcus ventriculi	1½ „	1:200 +	1:200 +	1:2000 +
11. Enteritis chronica	1 „	1:200 +	1:200 +	1:4000 +
12. „ „	1½ „	1:200 ±	1:200 ±	1:2000 +
13. Asthma nervosum	1½ „	1:200 ±	1:200 ±	1:1000 +
14. Ca. oesophag.	45 Min.	1:100 ++	1:100 +	1:2000 +
15. Ca. ventriculi	35 „	1:200 +	1:200 ++	1.2000 +

Paraty. B
bei 14. 1:100 +
„ 15. 1:100 +

Aus diesen Tabellen ersehen wir, daß die Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten nicht durch dieselben Momente bedingt sein kann, wie die positive Widal-Reaktion nach der Impfung. Denn, wären die Bedingungen die gleichen, so hätte jede Blutkörperchenfallzeit auf 20—15 Min. abgekürzt werden müssen, wie dies bei Seren schwer entzündlicher Natur der Fall ist. Im Höchstfall wird hier die Fallzeit der Erythrozyten im Vergleich zu früher auf ein Drittel der Zeit ab-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gekürzt, doch sagt uns diese Tatsache, daß zwar eine geringe Globulinvermehrung eingetreten ist, daß sie aber keineswegs auf 20—15 Min. herabgesunken ist, wie das sonst der Fall ist bei unspezifischer Agglutination, z. B. ein Typhus-Widal 1:200 + bei einer Pleuritis. Wenn hier die Blutkörperchen von Typhusschutzgeimpften in 3 Std. sedimentierten, so erfolgte 8 Tage nach der Impfung bei positivem Typhus-Widal 1:2000 ++ die Sedimentierung erst in 1 Std. Interessant die die beiden letzten Fälle der Tabelle. Wir sehen an der Senkungszeit vor der Impfung schon eine hohe Globulinmenge vorherrschend, nach Injektion des Impfstoffes jedoch tritt nur eine ganz mäßige Senkungsbeschleunigung auf. Also, der Körper, der den geringsten Globulinsatz hat, reagiert am stärksten auf Reizung, sei es durch Impfstoff oder durch Proteinkörperinjektion, derjenige, dessen Albumin sich fast ganz in Globulin umgebildet hat, am wenigsten. Diese Befunde decken sich auch wahrscheinlich mit den Tatsachen bei der Proteinkörpertherapie. In frischen Fällen sehen wir Erfolge mit den verschiedensten Eiweißpräparaten, bei chronischen Prozessen also so gut wie gar keine. Gute Ergebnisse sah ich bei Eigenblutinjektion bei jeder frischen Pneumonie oder Pleuritis, weniger gute Erfolge jedoch bei der tuberkulösen Pleuritis. Nach Eigenblutinjektion (50—60 ccm) trat eine Besserung des Befundes und schnelle Resorption ein, bei chronischen Fällen aber ist die Aussicht schlechter. Nach Injektion von Proteinkörpern erfolgt bei allgemeiner Körperreaktion Globulinvermehrung und somit eine beschleunigte Sedimentierung der Erythrozyten. (S. hierzu die Arbeit von W. und H. Löhr, Ztschr. f. d. ges. Med. Bd. 29, S. 139.) Bei der spezifischen Widal-Reaktion spielen nicht so sehr Globuline wie Lipoide die Hauptrolle, so daß man die Theorie von Herzfeld-Klinger bezüglich der Wasserbenetzbarkeit der suspendierten Teilchen vielleicht als richtig ansehen darf. Wenn ich also in früheren Arbeiten, wo ich sämtliche Widal-Reaktionen für unspezifisch hielt, behauptete, man dürfe kein Blut, das zur Widal-Reaktion angesetzt würde, auf Eis stellen, so möchte ich heute feststellen, daß ich bei meinen weiteren Untersuchungen keinen dauernden negativen Ausfall der Widal-Reaktion feststellen konnte, wahrscheinlich also deswegen, weil solche Reaktionen, die trotzdem positiv ausfielen, spezifischer Art waren und zum größten Teil an die Lipoide, weniger an Globuline gebunden waren.

Es erhebt sich nun noch die Frage: Kann man denn den unspezifischen vom spezifischen Widal unterscheiden? Diese Frage kann man m. A. nach kaum mit einem ja beantworten; denn bei einer richtigen Typhuserkrankung wird der Widal auch erst nach 10 Tagen positiv; innerhalb dieser Zeit aber wirkt die Schwere der Erkrankung, die Toxine der Typhusbazillen und die Entzündungen im Darm derart, daß nun wiederum das Entzündungsmoment allein den positiven Ausfall der Widal-Reaktion bewirken kann. Der Agglutinintiter kann auch nicht den Ausschlag geben, da Typhuskranke meistens auch nur bis 1:200 + agglutinieren. In den Fällen aber, wo z. B. Para-B-Widal negativ, Typhus abdominalis aber 1:200 + oder 1:100 ++ ist, kann man mit Bestimmtheit annehmen, daß es sich um eine wirkliche, vielleicht aber leichte, Typhuserkrankung trotz fehlender klinischer Symptome handelt. Ein derartiges Beispiel führe ich deswegen an, weil der unspezifische Typhus-Widal vorher erst Paratyphus-B-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bazillen agglutiniert hätte, denn letztere tragen geringere Ladung als die Typhusbazillen und werden daher auch immer eher agglutiniert als Typhus abdominalis.

Zur Feststellung einer Diagnose in zweifelhaften Fällen kommt für den Kliniker an erster Stelle die Bazillenkultur in Frage, die Gruber-Widal-Reaktion darf nicht allein maßgebend sein, da sie, wie wir gesehen haben, unspezifischer Natur sein kann.

Bezüglich der einschlägigen Literatur verweise ich auf die Arbeiten von Vorschütz, Jos., in Pflügers Arch. Bd. 186. H. 4—6, ferner Ctrbl. f. Bakt., Abt. I., Orig., Bd. 88. 1922. H. 5.

Nachdruck verboten.

Ueber Gewinnung keimfreier Schutzpockenlymphe.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung (Bakteriologisches Laboratorium) des Reichsgesundheitsamtes.]

Von Prof. Dr. E. Gildemeister.

Unter den Einwänden, welche die Impfgegner gegen die Schutzpockenimpfung vorzubringen pflegen, steht mit an erster Stelle der, daß die bei der Impfung zur Verwendung kommende Schutzpockenlymphe häufig Bakterien in mehr oder minder großer Zahl enthält, und daß mit der Lymphe in die Impfschnitte Mikroorganismen gebracht werden, von denen sich nicht übersehen lasse, ob sie dem Menschen Schaden zufügen können. Wenn nun auch dem entgegenzuhalten ist, daß die in der Lymphe etwa vorhandenen, vom Tiere stammenden Keime im allgemeinen für den Menschen nicht pathogen zu sein pflegen, und daß durch genaue bakteriologische Kontrollen bakteriologisch nicht einwandfreie Impfstoffe ausgemerzt werden können, so unterliegt es doch keinem Zweifel, daß eine mit Sicherheit bakterienfreie Lymphe diese Einwände hinfällig machen und den Anforderungen chirurgischer Asepsis mehr entsprechen würde.

Das Glyzerin, das sich als Verdünnungs- und Konservierungsmittel der Schutzpockenlymphe seit Jahrzehnten bewährt hat, vermag, wie wir wissen, wohl stets eine starke Verminderung der in dem vom Kalbe gewonnenen Rohstoff vorhandenen Begleitbakterien herbeizuführen; es wird sogar nicht selten völlige Keimfreit schon durch das Glyzerin allein erzielt, aber in einer nicht unerheblichen Zahl von Lymphproben bleibt auch nach mehrwöchiger Lagerung eine beträchtliche Zahl von Keimen lebensfähig. Es ist daher verständlich, daß immer wieder Versuche unternommen werden, Mittel zu finden, die bei Erhaltung der Virulenz des Pockenerregers die Begleitbakterien mit Sicherheit abtöten. Es soll hier nicht auf die Gesamtheit der in dieser Richtung vorliegenden Arbeiten eingegangen werden, sondern nur auf die Arbeiten der Nachkriegszeit, die zum Teil erfolgversprechende Resultate gezeitigt haben.

F. Kirstein berichtete 1919, daß es mittels Morgenrothscher Chinaalkaloide gelingt, Pockenlymphe keimfrei zu machen. Von den von ihm geprüften Präparaten hat sich ihm das Eucupinotoxinum hydrochloricum am besten bewährt. Bei seinen Versuchen ging er in der Weise vor, daß er den vom Kalbe abgenommenen Rohstoff mit Glyzerinwasser (3 Teile Glycerinum purissimum + 1 Teil physiol. Kochsalzlösung) dem Eucupinotoxinum hydrochloricum im Verhältnis 1 : 5000 zugesetzt war, so versetzte, daß eine Lymphverdünnung von 1 Teil Lymphe + 5 Teile Glyzerinwasser entstand.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Lymphe wurde in den ersten 4 Tagen bei Zimmertemperatur, von da ab im Eisschrank aufbewahrt. Vor der Einstellung der Proben in den Eisschrank wurde das in der Lymphe enthaltene Eucupinotoxin durch Zusatz von etwas Sodalösung bis zu eben eintretender alkalischer Reaktion wieder nach Möglichkeit ausgefällt. Die Paralysierung des Mittels nach der erfolgten abtötenden Wirkung auf die Begleitbakterien ist nach Kirstein von ausschlaggebender Bedeutung für die Erhaltung der Virulenz der Pockenlymphe. Derartig behandelte Lymphe erwies sich innerhalb von 8 Tagen so gut wie keimfrei, jedenfalls zum mindesten wesentlich keimärmer als die ohne Eucupinotoxin angesetzte Glyzerinlymphe. Bezüglich der Virulenz konnte eine Beeinträchtigung durch den Zusatz des Chemikale nicht festgestellt werden.

Ueber dieses Verfahren liegen bereits zwei Nachprüfungen vor, die im wesentlichen die Angaben Kirsteins bestätigen. Krumbach erzielte durch den Eucupintoxinzusatz zur Glyzerinlymphe innerhalb von 7 Tagen sogar völlige Keimfreiheit, vorausgesetzt, daß das Ausgangsmaterial keine Sporenbildner enthielt, dabei zeigte die Wirksamkeit der Eucupinotoxinlymphe innerhalb von $1^3/_4$ Mon. keine Abnahme. Aus den Versuchen von Krumbach geht ferner hervor, daß die Anwesenheit von Glyzerin zur Erzielung einer keimfreien Lymphe mittels Eucupinotoxin unbedingt erforderlich ist. Das Eucupinotoxin allein ist selbst in einer Konzentration von 1 : 500 in der Lymphe fast unwirksam. Groth und Arnold geben an, daß das Eucupinotoxin als Zusatz zur Glyzerinlymphe, also im Zusammenwirken mit dem Glyzerin, selbst in der Verdünnung 1 : 6000 dem Glyzerin allein noch überlegen ist. Diese Autoren erzielten wie Kirstein beim Zusatz von Eucupinotoxin im Verhältnis 1 : 5000 zur Glyzerinlymphe innerhalb von 8 Tagen fast völlige Keimfreiheit. Die Wertbestimmung an Kaninchen ergab zwar eine Herabminderung der erzielten Virulenz der Glyzerin-Eucupinotoxinlymphe gegenüber der reinen Glyzerinlymphe, die jedoch nicht so stark war, daß die Verwertung des Impfstoffes zu Kinderimpfungen hätte beanstandet werden müssen.

Ernst Illert empfiehlt zur Erzielung keimfreier Schutzpockenlymphe den von L. Benda dargestellten Akridinfarbstoff Trypaflavin. Er prüfte außer Trypaflavin noch 3 andere Akridinderivate, und zwar konz. Trypaflavin, das sauere Chlorid des 3,6-Diamin-10 methyl-akridiniums, Neutraltrypaflavin (Handelsware), das neutrale Chlorid des gleichen Farbstoffes, und konz. Neutraltrypaflavin. Letzteres hat sich ihm für den vorliegenden Zweck als besonders brauchbar erwiesen. Zur Herstellung der Lymphe wurden 1-proz. Lösungen der genannten Farbstoffe verwendet, die mit dem Rohstoffe im Porzellanmörser zu einer feinen Emulsion verrieben und dann im Eisschranke aufbewahrt wurden. Derartige Farbstofflymphe war in wesentlich kürzerer Zeit keimfrei als entsprechende Glyzerinproben. Bei mittlerer Rohstoffkeimzahl war die Lymphe in 24—48 Std. gebrauchsfertig. Bei Impfungen am Menschen war die vakzinale Virulenz der mit konz. Neutraltrypaflavin hergestellten Lymphe entsprechender Glyzerinlymphe ebenbürtig.

Groth und Arnold bestätigen die Angaben Illerts, daß die bakterizide Kraft der Trypaflavinfarbstoffe dem Glyzerin überlegen ist; sie geben hierbei dem Trypaflavin Handelsware vor dem konz. Neutraltrypaflavin den Vorrang. Abweichend sind indes ihre Versuchsergebnisse bezüglich der Erhaltung der vakzinalen Virulenz der Trypaflavinlymphe; es findet, wie Wertbestimmungen an Kaninchen zeigten, im Einklang mit der keimvermindernden Fähigkeit auch eine Herabsetzung der Virulenz statt, so daß demnach nach Groth und Arnold dem Trypaflavin keine elektiven Wirkungen zukommen.

Ausgehend von der von Lentz gemachten Feststellung, daß Karbolsäure relativ wenig schädlich auf Vakzinevirus einwirkt, hat H. A. Gins Versuche angestellt, dieses Desinfiziens zur schnelleren Beseitigung der Begleitbakterien im Rohstoff heranzuziehen. Das von ihm ausgearbeitete Verfahren gestaltet sich folgendermaßen: Der Rohstoff wird mit der mindestens 5-fachen Gewichtsmenge 1-proz. Karbolsäure im Schüttelapparat 3 Std. geschüttelt, dann mit steriler Kochsalzlösung unter Schütteln in einer großen Flasche so lange gewaschen, bis mit Eisenchloridlösung keine Phenolreaktion mehr entsteht. Nach dem Abfiltrieren auf einem feinen Drahtsiebe wird das Gewicht des Rohstoffes wieder festgestellt und mit den doppelten Gewichtsmengen Kochsalzlösung und Glyzerin zum Zerreiben angesetzt. Da derartige Lymphe, welche nur 40-proz Glyzerinkonzentration hat, leicht sedimentiert, bekommt die Kochsalzlösung einen Zusatz von 2 auf 1000 Agar. Durch dieses Verfahren gelingt es nach Gins, innerhalb von 24 Std. eine Lymphe mit hoher Virulenz und sehr geringem Gehalt an Begleitbakterien zu erzielen. Mit einer solchen Lymphe wurden bei Erstimpfungen 100 Proz. personelle Erfolge erzielt, mit Ausnahme einer Lymphe, bei der die Abschwächung innerhalb kürzester Frist erfolgte. Erwähnt sei noch, daß von 30 mit Karbol behandelten Lymphen 10 völlig bakterienfrei waren, 4 eine Keimzahl unter 1000, 11 bis zu 10 000 hatten und nur 5 Proben höhere Zahlen aufwiesen. Nach welcher Zeit die bakteriologische Prüfung ausgeführt wurde, ist nicht angegeben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Verfahren von H. A. Gins ist von Groth und Arnold nachgeprüft worden. Sie haben sich hierbei an die von Gins angegebene Versuchsanordnung gehalten, nur den Rohstoff nicht unmittelbar, sondern erst nach seiner Verreibung untersucht und dabei Keimzahlen gefunden, welche wenigstens teilweise hinter Glyzerinlymphen, die nicht mit Karbolsäure vorbehandelt waren, zurückblieben. Auch die vakzinale Virulenz der mit Karbolsäure behandelten Lymphe erleidet nach Groth und Arnold eine deutliche Abnahme, weshalb sie der Karbolsäure eine elektive Wirkung absprechen.

Schließlich ist noch eine Arbeit von M. Coplans zu erwähnen, der bakterienfreien Pockenimpfstoff zu erreichen suchte, indem er 20 Teile Kälberrohstoff mit 40 Teilen Glyzerin, $^1/_2$ Proz. Karbolsäure und Brillantgrün oder Malachitgrün 1:1000 bis 1:10000 ansetzte. Die Farbstoffkomponente wird durch Zusatz von Natriumhydrosulfit unwirksam gemacht und gleichzeitig entfärbt. Es soll auf diese Weise innerhalb von 5—15 Tagen ein keimfreier Impfstoff mit voll erhaltener vakzinaler Virulenz gewonnen werden. Nachprüfungen über dieses Verfahren liegen, so weit mir bekannt, bisher nicht vor.

Ich habe mich eingehend mit der von F. Kirstein (Eucupinotoxinlymphe und von Ernst Illert (Trypaflavinlymphe) angegebenen Verfahren beschäftigt und möchte nachstehend über die hierbei gewonnenen Erfahrungen und einige eigene Versuche kurz berichten. Die hierzu erforderlichen Chemikalien wurden mir in dankenswerter Weise von den Vereinigten Chininfabriken Zimmer u. Co. in Frankfurt a. M. und von der Firma Leopold Cassella u. Co., G. m. b. H., in Frankfurt a. M. zur Verfügung gestellt. Im ganzen wurden zu den Versuchen 14 verschiedene Rohstoffe verwendet, und zwar 7 am Kaninchen von mir selbst hergestellte und 7 Kälberrohstoffe, die ich der Liebenswürdigkeit der Direktoren der Staatl. Lymphgewinnungsanstalten in Berlin und Dresden, den Herren H. A. Gins und Regierungs-Med.-Rat Dr. v. Einsiedel, verdanke.

I. Gewinnung keimfreier Lymphe mittels Eucupinotoxinum hydrochloricum nach F. Kirstein.

Die von diesem Autor gegebenen Vorschriften wurden genau eingehalten bis auf eine geringfügige Abweichung, die darin bestand, daß stets 80-proz. Glyzerinwasser zur Verwendung gelangte. Der Rohstoff wurde mit dem Glyzerinwasser versetzt, alsdann erfolgte der Eucupinotoxinzusatz aus einer 1-proz. kurz zuvor bereiteten Lösung. Hierauf wurde das Ganze entweder im Mörser oder in der Lymphmühle verrieben und nunmehr dauernd bei Zimmertemperatur gegen Licht geschützt belassen. Am 5.—10. Tage wurde Sodalösung bis zu leicht alkalischer Reaktion des Gemisches zugesetzt.

Die in regelmäßigen Zwischenräumen erfolgten Keimzählungen ergaben nun einwandfrei, daß die Zahl der Begleitbakterien in der mit Eucupinotoxin versetzten Lymphe wesentlich schneller abnimmt als in der gewöhnlichen Glyzerinlymphe. Im allgemeinen enthielt die Eucupinotoxinlymphe nach 8 Tagen nur wenige Keime in 1 ccm, 2 Proben waren nach dieser Zeit steril; nach 3—4wöchiger Lagerung waren alle Proben steril.

Die Auswertung der vakzinalen Virulenz der Eucupinotoxinlymphe fand ausschließlich am Kaninchen mittels intrakutaner Impfung nach Groth statt. Hierbei zeigte sich, daß eine 6 Wochen, 2 Monate und 3 Monate alte Eucupinotoxinlymphe die gleiche Virulenz aufwies wie entsprechend alte Glyzerinlymphe, die aus demselben Rohstoff gewonnen war. Eine stärkere Abnahme der Virulenz infolge des Eucupinotoxinzusatzes konnte somit nicht festgestellt werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II. Gewinnung keimfreier Lymphe mittels Trypaflavin nach Ernst Illert.

Zur Verwendung gelangten konz. Trypaflavin, konz. Neutral-Trypaflavin und Neutraltrypaflavin (Handelsware). Im übrigen wurden auch hier Illerts Vorschriften genau eingehalten. Zunächst seien einige allgemeine Bemerkungen vorausgeschickt. Das Neutraltrypaflavin (Handelsware) ist in Wasser wesentlich schwerer löslich als die beiden anderen Präparate. Störend ist sicherlich der braune Farbstoff, da er beim Impfen in der Praxis Flecken in der Wäsche verursachen wird. Der mit 1-proz. Trypaflavin versetzte und verriebene Rohstoff sedimentiert in der Farblösung sehr schnell, was als Nachteil empfunden werden muß.

Die Keimzählungen ergaben eine einwandfreie Bestätigung der ausgezeichneten bakteriziden Wirkung des konz. Trypaflavins und des konz. Neutraltrypaflavins, zwischen denen keine wesentlichen Wirkungsunterschiede bestanden. Innerhalb von 4—5 Tagen, des öfteren auch schon innerhalb von 3 Tagen war die Lymphe keimfrei. Für das Neutraltrypaflavin (Handelsware) traf dies nicht zu; zuweilen trat auch hier Sterilisierung der Lymphe ein, zumeist blieben aber Keime (keine Sporenbildner) auch nach Wochen noch in großer Zahl nachweisbar. Worauf das Versagen dieses Präparates beruht, ist nicht ohne weiteres ersichtlich.

So günstig die Keimzählungen für das konz. Trypaflavin und das konz. Neutraltrypaflavin ausgefallen waren, so ungünstig war der Ausfall der Wertbestimmungsversuche an Kaninchen nach Groth. Als Beispiel sei folgender Versuch angeführt: eine mit Kälberrohstoff Dresden 32 am 14. Okt. 1922 angesetzte Glyzerinlymphe ergab am 27. Nov. 1922 an Kaninchen noch in der Verdünnung 1:10000 eine deutliche Intrakutanreaktion, während die entsprechenden Trypaflavinlymphen nur in der stärksten Konzentration (1:10) eine schwache bzw. undeutliche Reaktion verursachte. Auch die übrigen Auswertungsversuche ließen eine deutliche Abschwächung im Vergleich zur Glyzerinkontrolle erkennen.

III. Gewinnung keimfreier Schutzpockenlymphe mittels Rivanol.

Das neue Morgenrothsche Präparat Rivanol, das sich als Tiefenantiseptikum bereits gut bewährt hat, gehört bekanntlich wie das Trypaflavin zu den Akridinfarbstoffen. Es schien mir vom Interesse, auch die Verwendbarkeit des Rivanols für den vorliegenden Zweck zu prüfen, wobei analog dem Vorgange von Kirstein die Wirkung des Rivanols mit der des Glyzerins kombiniert wurde. 1 g Rohstoff wurde mit 5 ccm Glyzerinwasser versetzt, alsdann wurden 0,2 ccm einer 1-proz. Rivanollösung (die Lösung des Mittels erfolgte in dest. Wasser unter kurzem Aufkochen) zugegeben. Die Versuche zeigten, daß in der Tat durch den Rivanolzusatz die Keimverminderung gegenüber der Glyzerinkontrolle beschleunigt wurde, wenn auch nicht in dem Maße, wie es bei dem Eucupinotoxinum hydrochloricum der Fall war; sie führten aber auch zu der weiteren Feststellung, daß das Rivanol die vakzinale Virulenz der Lymphe etwas beeinträchtigt.

Zusammenfassung.

Aus den vorstehenden Ausführungen ergibt sich, daß von den angeführten Verfahren — wenn von dem Coplansschen, über das eine

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachprüfung noch nicht vorliegt, abgesehen wird — dem Ziele, eine keimfreie Lymphe ohne Beeinträchtigung ihrer vakzinalen Virulenz zu gewinnen, zweifelsohne die Kirsteinsche Eucupinotoxin-Glyzerinlymphe am nächsten kommt. Sie ergibt nach 8 Tagen häufig, nach 2—3wöchiger Lagerung fast regelmäßig Keimfreiheit, falls das Ausgangsmaterial keine Sporen enthält, und erfährt durch den Eucupinotoxinzusatz nach den Untersuchungen von Kirstein, Krumbach und mir keine Abnahme, nach den Untersuchungen von Groth und Arnold eine geringfügige, praktisch unbedeutende Abschwächung der vakzinalen Virulenz. Es dürfte daher angezeigt sein, die von Kirstein angegebene Eucupinotoxin-Glyzerinlymphe in der Praxis in großem Maßstabe auf ihre Brauchbarkeit im Vergleich zu der in der üblichen Weise hergestellten Glyzerinlymphe zu prüfen.

Literaturnachweis.

Coplans, M., Journ. of Pathol. and Bact. Vol. 25. 1922. p. 173. — Gins, H. A., Dtsch. med. Wochenschr. 1921. S. 1362. — Groth u. Arnold, ebenda. 1922. Nr. 47. — Illert, Ernst, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. H. 1. — Ders., Dtsch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 7. — Kirstein, ebenda. 1919. Nr. 40. — Krumbach, H., Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 34. 1922. H. 6.

Nachdruck verboten.

Die Beteiligung des Sauerstoffes bei der oligodynamischen Metallwirkung[1]).

[Aus der Bakteriologischen Abt. des Reichsgesundheitsamtes in Dahlem (Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Haendel, Laboratoriumsvorsteher: Prof. E. Gildemeister).]

I. Mitteilung.

Von **Kurt Herzberg.**

Mit 1 Tafel.

Die hemmende bzw. abtötende Wirkung kleinster Metallmengen auf das Bakterienwachstum wird in letzter Zeit vor allem als eine direkte Salz- oder Ionenwirkung aufgefaßt (1—15). Das augenscheinliche Mißverhältnis zwischen der zur Erzielung des keimfreien Hofes (k. H.) notwendigen minimalen Metallsalzmenge und dem Effekt selbst, jener im Agar unbewachsen gebliebenen Stelle, sieht man durch die Annahme einer Intensitätsvermehrung infolge adsorptiver Vorgänge als geklärt an. Dieser Ansicht, die Spiro 1915 näher begründete (1), stehen einige Beobachtungen gegenüber, die noch andere Einflüsse möglich erscheinen lassen. Aus Fickers (16) 1898 erschienener Arbeit geht hervor, daß gelüftete kupferhaltige Flüssigkeiten ($CuSO_4 = 0{,}5 \cdot 10^{-6}$ stärker desinfizieren als solche, aus denen die Luft ausgetrieben wurde, und Rankin (17) berichtet über ähnliche Beobachtungen beim Aluminium und Zink. Die Erklärung hierfür sah man jedoch nicht in einem direkten Einfluß des Sauerstoffs, sondern in einem indirekten:

1) Nach einem Demonstrationsvortrag, gehalten am 13. Nov. 1922 in der Berlin. Gesellschaft für Mikrobiologie.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durch die Gegenwart des O_2 wird für die Metalle (bei gleichzeitiger Anwesenheit bindender Substanzen) überhaupt erst die Möglichkeit einer Lösbarkeit (soweit man vom Lösungsdruck absieht) geschaffen, und zwar in Form verschiedener Oxydationsstufen[1]). Dieser Gedanke liegt auch den Untersuchungen von Doerr und Berger (3) zugrunde, die die Veränderlichkeit des Silbers in verschiedenen Gasen und Gasgemischen durch ihr späteres Verhalten zu Wasser prüften.

Die Ablehnung einer direkten Oxydationswirkung schien durch das negative Ergebnis, das Miller (18) mit Schaumgold gehabt hatte, gestützt (19)[2]). Die Annahme einer Verdichtung des O_2 (so mag zunächst ein direkter gesteigerter Einfluß des molaren Sauerstoffs genannt werden, da diese Wirkung der O_2-Molekel nur durch unmittelbare Attraktion an das Metallion, nicht aber auf eine Entfernung gedacht werden kann) mit Hilfe von Metallspuren ist also zugunsten einer direkten Salz- bzw. Ionenwirkung fallen gelassen worden; nicht mit Recht, wie die folgenden Untersuchungen zeigen werden.

Man kann den oxydationsbeschleunigenden Einfluß oligodynamischer Flüssigkeiten sehr schön durch Farbreaktionen (z. B. durch die Blaufärbung der Leukobase des Methylenblaus, desgl. eines Gemisches von Dimethyl-p-phenylendiaminchlorhydrat + alk. α Naphthollösung oder einer Entfärbung der Indigodisulfosäure) demonstrieren. Diese Farbveränderungen, denen (wie beim Malachitgrün, Methylenblau, der Indigodisulfosäure) Dehydrierungen zugrunde liegen, sind auch als Beweis für die katalytische Kraft von Metallen (Eisen, Quecksilber, Kupfer) im Gewebe herangezogen worden (20, 21, 22). J. Schumacher hat außerdem noch eine Anzahl Reaktionen mit Leukomethylenblau an den Zellkernen durch ionisierte Metalle beschrieben. Er bringt sie mit dem Randwulst am k. H. in Verbindung, indem er die Farbreaktionen als Sauerstoffwirkung ansieht, und letzterer die Möglichkeit einer Stoffwechselsteigerung[3]), wie sie von Schade (23), von Izar (24) und Ascoli und Izar (25), z. B. nach Hg-Einfuhr nachgewiesen wurde, zuspricht. Die hier gegebene Beweisführung benutzt diese Methodik nicht, da die genannten Farbreaktionen vorläufig nicht einheitlich deutbar sind, Randwulsterscheinungen selbst auf optimalen Nährböden nur in etwa 25 Proz. der Fälle erhalten werden (30), endlich aber, weil Nägelis Augenmerk auf die Erscheinungen der Vernichtung des Lebens gerichtet war, während die Beförderung erst später (durch die Beobachtungen von Löhner und von H. Schulz) einbezogen wurde; sie stützt sich vielmehr auf die Veränderungen, denen der k. H. selbst unter aëroben und anaëroben Bedingungen ausgesetzt ist.

Kupfer.

Benutzt wurden Kupfermünzen von 2—3 cm Durchmesser, auf die in Petri-Schalen gewöhnlicher Agar (1,5-proz., p_H 7,3) so lange gegossen wurde, bis er die Münze eben bedeckte. Bespatelung hier wie in allen folgenden Versuchen mit Bact. coli (1 Oese — 2 mm —

1) Für die Rankinschen Versuche geht die Richtigkeit dieser Deutung schon aus Spiros Arbeit hervor. Bei bereits gelöstem Metallsalz muß sie aber versagen.

2) Geschichte und Theorie dieser Vorgänge durch Metallsalze (Entstehen elektrischer Ströme (Thiele u. Wolf), Emanation, Fernwirkung (Franke, Saxl) usw. finden sich in dem ausführlichen Referat von Süpfle, sowie in den Arbeiten von Löhner und Markovits und Messerschmidt (l. c.).

3) Cf. auch die Steigerung der Oxydasewirkung durch Metalle (Foà und Aggazzotti, Biochem. Ztschr. Bd. 19. 1909. S. 52.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einer 18-stünd. Schrägagarkultur in 8 ccm Bouillon, davon 1 Tropfen). Läßt man aërob wachsen, so ist am nächsten Tag der bekannte keimfreie Hof sichtbar.

Wie bildet sich dieser Hof bei anaëroben Verhältnissen aus? Zur Anwendung gelangten Küstersche Schalen, auf die Petri-Schalen mit Plastilin aufmontiert wurden; die O_2-Absorption geschah durch Pyrogallol und Kalilauge. Nach 24 Std. war das Wachstum, wie nicht anders zu erwarten, spärlicher als bei O_2-Gegenwart, statt des Rasens mehr in Kolonien geteilt. Der k. H. war deutlich ausgeprägt; hier und dort standen zwar ein paar Kolonien an seinem äußersten Rande, aber die ganze Ausdehnung, mit der er auftrat, ließ einen Einfluß des Abschlusses vom O_2 der Luft nicht erkennen.

Da möglicherweise der Sauerstoffgehalt des Agars von Bedeutung war, wurde nach einem neuerdings von Manteufel (26) wiederempfohlenen Verfahren zur energischen O_2-Beseitigung auf 10 ccm Agar 1 Tr. 10-proz. Na_2S und 1 Tr. 1-proz. Methylenblaulösung als Indikator hinzugesetzt. Die Wirkung der abdiffundierenden Cu-Salze wird dadurch im Agar weder bei Kupfer- noch bei Silbermünzen in besonderer Weise beeinflußt. Durch diesen Indikatorzusatz ergab sich aber weiterhin eine Reaktion, die die Ausdehnung der Cu-Diffusion leicht erkennen ließ. Dies war von Bedeutung, weil aus theoretischen Gründen eine eventuell vorhandene O_2-Wirkung vor allem in der Peripherie angenommen werden mußte.

Gießt man auf Kupfermünzen Agar, der reduziertes Methylenblau enthält, und läßt aërob stehen, so färbt sich innerhalb weniger Stunden die ganze Agarmasse tief blau. Bringt man jedoch die Agarplatte unmittelbar nach dem Erstarren unter anaërobe Verhältnisse, so lassen sich mit großer Regelmäßigkeit folgende Vorgänge beobachten: nach 1 Std. schwache Blaugrünfärbung des Agars, die in der Nähe der Münze eine Verstärkung zeigt. Diese initiale Blaufärbung ist ein Beweis dafür, daß eine erhebliche Zeit vergeht, bis der Sauerstoff des Luftraumes über dem Agar von dem Pyrogallol gebunden ist. Doch ist der Moment dieser Wiederentfärbung nicht als Kennzeichen dafür anzusehen, von welchem Augenblicke an in dem Raume über dem Agar praktisch O_2-Freiheit herrscht, denn die Entfärbung nimmt im Agar erheblich längere Zeit in Anspruch als die O_2-Absorption aus der Luft. [Siehe van Riemsdijcks (27)[1]) Hydrophilgazeindikator.]

Nach 1 Tage Brutschrankaufenthalt zeigt die Platte normale Agarfarbe bis auf eine etwa 1,5 cm breite Zone um die Münze herum, die, von dem Metall noch durch einen 1—2 mm schmalen hellbraunen Ring getrennt, tief dunkelblau gefärbt ist. Im Verlaufe einiger Tage blaßt der blaue Ring ab. Mit seiner ursprünglichen Ausdehnung am 1. Tage läßt er die Grenze, bis zu der das Cu vordringt, scharf festlegen, und so auch leichter Vergleiche eventuell unterschiedlicher Wachstumsausbreitungen der Bakterien bei verschiedenen Bedingungen (aërob-anaërob) ermöglichen. Diese Ringbildung, die ein Analogon zu der Fuchsinfärbung von Pfeiffer und Kadletz (6) darstellt, ist auf eine Dehydrierung der Methylenblauleukobase zurückzuführen, da Bläuungen von der gleichen Intensität und Tönung an den im Agar eingeschlossenen Luftbläschen zu beobachten waren und eine Entstehung von Cu-Ammoniakverbindungen aus Kontrollen abgelehnt werden konnte. (Die sichtbare Bildung von Kupferkarbonat ist auf einen sehr engen Bezirk an der Münze beschränkt, cf. Messerschmidt, l. c.) Wenn aber auch hier ein „Oxydationsprozeß" nach alter Nomenklatur vorliegt, so soll doch der geschilderte Ring auf Grund der vorher angeführten Bedenken nur als Indikator angewendet werden, wie weit das Cu in den Agar diffundiert.

Man montiert solche mit reduziertem Methylenblau versetzten Münzenplatten nach dem Erstarren auf Küstersche Schalen und läßt sie 48 Stunden im Brutschrank stehen. Dann wird die äußere Grenze des blauen Ringes mit Rotstift markiert, jede Petri-Schale abmontiert und mit Colibouillonaufschwemmung, wie oben angegeben, bespatelt.

1) Nach den umfangreichen Versuchen dieser Autorin lassen sich die für die Anaërobenzüchtung in Küsterschen Schalen notwendigen Reagentien auf 3 ccm 33-proz. Pyrogallollösung und auf 7,5—8 ccm 20-proz. KOH (Rauminhalt inkl. Petri-Schale 300 ccm) berechnen. Mit diesen Mengen wurde hier durchgängig gearbeitet.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Hälfte der Platten deckt man als Kontrolle nur mit Glasdeckeln zu, die andere Hälfte wird möglichst schnell erneut auf Küstersche Schalen gebracht. Es ist zu beachten, daß im Gegensatz zum ersten Versuch hier der Bespatelung ein 48-stünd. Verweilen im Brutschrank unter anaëroben Bedingungen voranging. Während des Bespatelns waren die nachher weiter anaërob zu züchtenden Platten ungefähr 20 Sek. der Luft ausgesetzt.

Vergleicht man die Wachstumszonen der beiden Serien nach 24 Std., so bietet sich folgendes Bild dar: Der äußere Rand des k. H. fällt beidemal fast genau mit der roten Markierung zusammen (etwas nach innen). Wäre ein deutlicher Sauerstoffeinfluß vorhanden gewesen, so hätte sich ein Unterschied an den Platten derart bemerkbar machen müssen, daß in den dauernd anaërob gehaltenen das Bakterienwachstum weit über den roten Ring nach innen vorgeschritten wäre, d. h. daß der k. H. hätte kleiner werden müssen. Es war die Möglichkeit eines solchen Versuchsergebnisses auf Grund der Mitteilungen von Pfeiffer (6) und von Ficker (16), sowie von Heermann (28), der die intensive sauerstoffübertragende Wirkung des $CuSO_4$ (Lochbildung — Entstehen von Oxyzellulose — in Leinengewebe bis zu Cu-Mengen von 10^{-5} mg)[1]) beobachtet hatte, eigentlich zu erwarten gewesen. Aber auch bei einer noch vollkommeneren O_2-Ausschaltung durch Arbeiten in Stickstoffatmosphäre war der Ausfall der gleiche. Es konnte im Gegenteil beobachtet werden, daß in einigen anaëroben Platten gegenüber den aëroben ein deutlich vermindertes Wachstum auftrat, und zwar in einer 1 cm breiten, ringförmigen Zone[2]), die sich an den k. H. unmittelbar anschloß (jedoch nur bei sehr intensiv wirkenden, noch nicht im Agar verwendeten alten Münzen). Wie ist dieses Verhalten zu erklären? Das Wachstumsvermögen ist durch die anaëroben Verhältnisse an sich schon geschwächt. Da eine ausgeprägte Sauerstoffwirkung des Kupfers im Agar beim Bact. coli aus unten zu erörternden Gründen nicht zu erkennen ist, kommt bei O_2-Gegenwart nur eine Verstärkung des Wachstums, wie sie für aërobe Keime in Luftatmosphäre üblich ist, in Frage. Bei O_2-Mangel fällt dieser begünstigende Einfluß fort, es addiert sich zu der hemmenden Cu-Wirkung die hemmende der O_2-Abwesenheit.

Die strikte Ablehnung jeglicher Sauerstoffwirkung ist jedoch nicht angängig. Ein Befund, der bei Silberstücken noch deutlicher wird, konnte vor allem bei mehrmals benutzten Münzen mit großer

1) Es ist für die Theorie dieser von Heermann Sauerstofffraß genannten Wirkung wichtig, daß höhere Konzentrationen von $CuSO_4$ im gleichen Medium (leicht alkalisch mit 0,1—0,01 Proz. aktivem Sauerstoff) versagten. Das stimmt auch mit der Beobachtung von Salus (12) überein, der höhere Cu-Konzentrationen auf Bakterien weniger wirksam fand als niedere, den Effekt allerdings nur mit der im Falle der höheren Konzentration niedrigeren Dissoziation in Zusammenhang brachte und allein daraus die Wirkung erklärte. Entsprechend faßt er das an Kupferkarbonatborken eines in Agar gelegten Kupferdrahtes beobachtete Koloniewachstum auf. Es ist indes die Intensität der Abtötung durchaus nicht nur eine Funktion der Dissoziation, wie es aus Krönig und Pauls Untersuchungen von anderen Autoren abgelesen wurde (vgl. das Referat von Hailer, Die chemischen Grundlagen der Desinfektionswirkung (Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. S. 2).

2) Der Hemmungsring durch Cu ist in aëroben Versuchen beim Bact. coli bekanntlich selten, und wenn er auftritt, nur wenige Millimeter breit. Seine Ausdehnung ist außer vom Metall vom benutzten Mikroorganismus abhängig. So hatte eine von Friedberger (29) in der Berlin. Mikrobiol. Gesellsch. demonstrierte, mit einer stark kupferhaltigen Silbermünze beschickte Agarplatte bei Leuchtbakterien einen ungewöhnlich breiten Hemmungsbezirk entstehen lassen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Konstanz erhoben werden. Beim anaëroben Wachstum liegt in der äußersten Randzone des k. H. (vom Beginn des Rasenwachstums 2—3 mm nach innen, manchmal auch bis zur Münze selbst) fast stets eine Anzahl Einzelkolonien, durchschnittlich 10—20; im aëroben Versuch ist dagegen die Grenze scharf ausgeprägt, wie ausgestanzt. Diese Kolonien sind nicht als Hemmungszone, sondern als ausnahmsweise, und zwar infolge der O_2-Abwesenheit, widerstandsfähige Ansiedlungen zu betrachten. Für die überwiegende Mehrzahl der ausgesäten Coli-Keime kommt aber diese Abschwächung der Kupferwirkung durch O_2-Entziehung nicht in Frage. Sie werden durch das Metallsalz allein vernichtet.

Die Versuche wurden dann in Agar ohne Indikatorzusatz angestellt. Auch hier war, bis auf die spärliche Einzelkoloniezone, eine besondere Beeinflussung des k. H. nicht zu erkennen. Im Gegensatz zu der O_2 aktivierenden Wirkung des Cu in Flüssigkeiten läßt sich also im Agar eine solche bei Anwendung von Münzen nur zu einem winzigen Bruchteil nachweisen. Das Hauptgewicht ist mithin auf die Metallsalzwirkung, wie sie von Spiro, Doerr und besonders Messerschmidt (l. c.) formuliert und bewiesen worden ist, zu legen. Es wird aber weiter unten gezeigt werden, daß diese Hemmungsprozesse an Münzen mit der Oligodynamie, wie sie Nägeli auffaßte, nichts zu tun haben. Der Grund für die geringe Ausprägung sauerstoffübertragender Vorgänge ist in der hohen Giftigkeit der Cu-Salze und in der bei Münzenversuchen im Agar auftretenden hohen Konzentration der Metallsalze zu suchen. Beide im Verein können eine auch unter Umständen stärkere Sauerstoffverdichtung, als sie hier dem Cu zukommt, im anaëroben Versuch durch vorzeitige Vernichtung der Keime verdecken. Die Zurückdrängung der Dissoziation kann außerdem beteiligt sein.

Silber.

Mittels der oben angeführten Methylenblau-Natriumsulfidreaktion ergab sich sehr bald, daß die Größe des k. H. bei Silbermünzen nicht vom Ag-, sondern vom Cu-Gehalt abhängt. Silberstücke von 960 Prägung und darüber zeigten kaum eine Andeutung eines blauen Ringes und wirkten entsprechend schwach wachstumshemmend. Ein- und Fünfmarkstücke der Vorkriegszeit (10 Proz. Cu) ergaben dagegen einen großen Ring und einen entsprechend liegenden k. H. Somit war die Wirkung der Silbermünzen im wesentlichen auf ihren Cu-Gehalt zurückgeführt[1]). Das Ergebnis der Züchtungen bei O_2-Abschluß und -Gegenwart ähnelte denn auch demjenigen, das für Kupfermünzen beschrieben worden ist. Es unterschied sich von ihm nur durch das erheblich reichlichere Auftreten von Einzelkolonien als ersten Wachstumserscheinungen am k. H. innerhalb einer 0,3—0,5 cm breiten Zone im anaëroben Versuch. Für ihr Entstehen und ihre Beziehung zum Sauerstoff gilt das beim Cu Gesagte.

Wünschenswert wäre noch eine Prüfung mit metallisch reinem Silber gewesen. Es wurden vier Stücke von chemisch reinem Ag, die längere Zeit gelagert hatten, verwendet; aber nur das erstemal trat eine Andeutung einer Wachstumshemmung, kein k. H. auf (7). Schon der 2. Versuch ließ nicht den geringsten Einfluß auf das Bakterien-

1) Cf. die gleichen Befunde bei Messerschmidt und Löhner l. c.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wachstum mehr erkennen. So konnten Kontrollen gar nicht ausgeführt werden, die bei Münzenversuchen immer folgendermaßen anzustellen wären: Zuerst der Hauptversuch anaërob, dann die Kontrolle mit denselben Münzen aërob; denn bei umgekehrter Reihenfolge könnte das schnelle Nachlassen der Wirkung der Silbermünzen (Doerr) mit einer Wachstumsbeförderung durch Sauerstoffabwesenheit fälschlich identifiziert werden.

Die starke Veränderlichkeit der keimtötenden Kraft der Münzen und die dadurch unsicher werdenden Kontrollen forderten eine gleichmäßigere Versuchsanordnung. Es wurde daher das zu untersuchende Metall als Salz oder Kolloid nach einer Methode von Seiffert (30) in flüssigen Agar gegeben, aus der in eine Petri-Schale gegossenen und hart gewordenen Mischung mittels sterilen Zentrifugierglases Agarscheiben gestanzt, diese mittels Platinspatels in eine andere Petri-Schale übertragen und in Agar eingegossen. Hier hat man die Metallsalzkonzentration sicher in der Hand. Variabel bleibt die Dicke der Agarschicht über der eingebetteten Scheibe, doch kann man recht übereinstimmende Schichten gießen. Der Fehler erreicht im Höchstfalle 1 mm; er wird durch die dem eigentlichen Versuch vorangehende 24-stünd. Bebrütung und die hierbei einsetzende Diffusion ausgeglichen. Diese Methodik wurde am

Quecksilber

in Form seines Chlorids angewendet. 0,1 g Sublimat werden in 100 ccm Aqua redest. gelöst, hiervon 7,2 ccm mit 32,8 ccm 65° warmen Agars vermengt, auf dem Nivelliertisch in möglichst plane Drigalski-Schalen (Dm. 18,5 cm) gegossen, nach einer Stunde Scheiben von 2,2 cm Dm. ausgestanzt. Zu den mittels Platinspatels in Petri-Schalen gelegten Sublimatagarscheibchen wird so viel Agar zugegossen, bis dieser gerade den oberen Rand des ausgestanzten Stückes erreicht hat; durch leichtes Neigen bringt man dann den Agar zum Überfließen. Nach dem Erstarren werden die Platten ungetrocknet auf Küstersche Schalen montiert, 24 Std. bei 37° stehen gelassen, dann abmontiert und mit Coli (s. o.) bespatelt. Die eine Hälfte der Platten wird nach dem Bespateln sofort wieder auf Küstersche Schalen, die erneut mit dem KOH-Pyrogallolgemisch beschickt sind, aufmontiert (Luftexposition 20 Sek.), die andere Hälfte aërob wachsen gelassen. Am nächsten Tage werden die Platten verglichen. Sie zeigen durchschnittlich folgendes Bild:

		Dm. des k. H.	Randzone
Hg-Konz. 1:6000	anaërob:	4,0 cm	unscharf
	aërob:	3,2 „	scharf

Der erste Eindruck war der einer Wirkungslosigkeit des Sauerstoffs im aëroben Versuch, ja eher der einer Wachstumsbegünstigung, da der k. H. kleiner war als bei anaëroben Bedingungen. Aber nach weiteren 24 und 48 Std. wurde der Unterschied zwischen aërober und anaërober Züchtung bei Hg-Gegenwart deutlich. Die aëroben Platten bleiben unverändert (Fig. 1). In den anaëroben schießen dagegen, während sich außerdem der Dm. des k. H. auf etwa 3 cm verkleinert, eine große Anzahl Kolonien quer durch den Bezirk der eingegossenen Sublimatagarscheibe auf (Fig. 2). Wir haben hier also ähnliche Verhältnisse, wenn auch wesentlich stärker ausgeprägt, wie bei Silber- und Kupfermünzen. Die Einzelkolonien stehen diesmal

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nicht mehr in einer beschränkten Randzone, sondern vermögen bei Sauerstoffabschluß quer über den Bezirk des k. H. zu wachsen. Größer wird die Zahl der Kolonien, wenn man mit der Konzentration auf 1:7000 herabgeht und die vorbereitende Sauerstoffentziehung auf 48 bis 72 Std. ausdehnt. Bei Hg 1:9000 treten auch im aëroben Versuch Einzelkolonien auf. Die Sauerstoffverdichtung des Hg im Agar ist also der Intensität nach gut ausgeprägt, in bezug auf die Wirkungs- (Konzentrations-) Breite aber beschränkt.

Das Hg schafft in dieser Versuchsanordnung allein nicht das Bild des k. H. Erst bei Sauerstoffgegenwart tritt in den genannten Konzentrationen im Agar eine völlige Wachstumsvernichtung der Keime ein. Da diese Kontrollplatten auch bei weiterer Bebrütung dauernd koloniefrei blieben, ist das Wachstum im anaëroben Versuch nicht als Erscheinung einer bloßen Gewöhnung zu betrachten. Die bakterizide Wirkung des Hg im Agar setzt sich mithin wie bei den Kupfer- und Silbermünzen, nur in deutlicherer Abgrenzung, aus einer starken Metallsalzwirkung und aus einer schwachen O_2-Verdichtung — zusammen.

Ein nun wieder gegenüber dem Hg erheblich gesteigerter Einfluß des Sauerstoffs wurde beim kolloiden Silber gefunden, das in Form des Heydenschen 12-proz.

Kollargol

zur Anwendung kam. 0,1 ccm Kollargol werden in 7,9 ccm Aqua dest. von ungefähr 50° getropft, mit 32 ccm Agar (65°) gut vermengt; hieraus werden Scheiben gestanzt, wie es oben beim Sublimat beschrieben wurde. Die weitere Versuchsanordnung folgte der dort angegebenen.

Ergebnis: Nach 24 Stunden war in den anaërob gehaltenen Platten schrankenloses Wachstum quer durch den Bezirk, der dem Kollargolscheibchen entsprach, eingetreten, und zwar als dichter Rasen. In den Kontrollplatten dagegen, die anaërob bis zur Bespatelung (24 Std.) dann aëroben Bedingungen unterworfen waren, trat ein scharf begrenzter k. H. auf, dessen Radius noch um $^1/_2$ cm größer war als der des eingegossenen Kollargolscheibchens[1]).

Die Steigerung des O_2-Einflusses im Vergleich zu den vorher untersuchten Metallen fand auch noch in anderen Erscheinungen ihren Ausdruck, die sich aus einem verhältnismäßig hohen O_2-Verdichtungsvermögen, aber einer geringen toxischen Wirksamkeit erklären. Bewahrte man die Kontrollen von Anfang an unter aëroben Bedingungen, so wurden die k. H. um 0,5 cm größer als bei den Platten, die erst 24 Std. anaërob, dann aërob gehalten wurden. Der eine Grund hierfür liegt in einer Veränderung der Agaroberfläche. Die zuletzt genannte Platte ist an sich O_2-ärmer als die dauernd an der Luft gehaltene und kann auch den O_2 infolge der Alterung schwerer wieder aufnehmen. Aus dem Ueberwiegen des Oxydationsvermögens über die toxische Wirkung ergibt sich dann die größere Breite des k. H. der dauernd aëroben gegenüber der O_2-ärmeren anaërob-aëroben Platte. Aus diesen und anderen Versuchen geht hervor, daß die O_2-Armut des Agars für den

1) Die Problemstellung wurde durch die Frage, ob die Sauerstoffverdichtung mehr auf das kolloide oder auf das beim Herstellungsprozeß unverändert gebliebene ionisierte Silber zurückzuführen ist, nicht berührt, so daß vorerst diese Erörterung unberücksichtigt geblieben ist. Eine Bestimmungsmethode des im kolloiden Silber ionisiert gebliebenen Anteils ist von Gutbier, Huber und Kuppinger (Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. 1922. 3 S. 748), angegeben, vgl. auch Doerr u. Berger, l. c.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hier erstrebten Erfolg wesentlicher ist als die des über ihm befindlichen Luftraumes (soweit sich eine Unabhängigkeit von dem zwangsläufigen Gasaustausch erzielen läßt.) Es ergab denn auch die Beimpfung der Platten (nach anaërober Vorbehandlung) in Stickstoffatmosphäre, wie sie anfangs zur Vermeidung irgendeiner Berührung mit Sauerstoff ausgeführt wurde, nur wenig bessere Resultate als die Methode, bei der die Platten zur Bespatelung kurze Zeit der atmosphärischen Luft ausgesetzt waren. Der hauptsächliche technische Faktor für das Gelingen der Versuche besteht in der anaëroben Vorbehandlung, der Sauerstoffentziehung aus dem Agar.

Für das Ueberwiegen des Oxydationseffektes über den toxischen sprachen auch noch eine Reihe weiterer Plattenversuche. Die starke Differenz der Kollargolwirkung gestattete eine Auswertung dieses Verhältnisses. Einen Rasen erhält man durch Sauerstoffentziehung über Kollargolagarscheibchen bis zu einer Konzentration von 0,05 : 10. Läßt man andererseits O_2 hinzutreten, so kann man mit der Konzentration auf 0,005 : 10 herabgehen, um noch einen k. H. zu erhalten; d. h. Sauerstoffabwesenheit läßt die Coli-Bakterien etwa die 10fache Kollargolmenge ertragen als Sauerstoffgegenwart.

Dieses Verhältnis gilt selbstverständlich nur für die angegebene Konzentration. Steigt man mit dem Kollargolgehalt, so wird auch die Sauerstoffentziehung unwirksam. Aber noch jetzt besteht ein deutliches Merkmal. Benutzt man z. B. Konzentrationen von 0,25 : 10, so ist im aëroben Versuch der k. H. stets größer als die eingegossene Scheibe, im anaëroben wächst dagegen der Rasen regelmäßig ein Stück in den dunkelbraun gefärbten Bezirk des Kollargolscheibchens hinein. Das Uebergreifen des Bakterienrasens auf den Kollargolbezirk selbst nimmt mit wachsendem Kollargolgehalt ab. Für die hier untersuchten Konzentrationen 0,1—1,0 : 10 beträgt die Ueberschneidung 0,15—0,5 cm. Ein Zahlenbeispiel mag dies erläutern. Der Dm. eines Kollargol-Agarscheibchens (0,5 : 10) betrug 2,2 cm. Durch Diffusion Verbreiterung der dunkelbraun gefärbten Zone auf 2,6 cm. Die Maße des k. H. bei O_2-Abwesenheit und -Gegenwart waren dann folgende:

anaërob	anaërob-aërob	dauernd aërob
2,2 cm	2,8 cm	4 cm

Ein k. H. beim Kollargol kann auf dreierlei Art erklärt werden. Es liegt entweder eine reine Kollargolgiftwirkung vor, oder ein Oxydationseffekt, oder es sind beide Prozesse beteiligt. Wäre das zweite richtig, so müßte sich stets im anaëroben Versuch ein Wachstum erreichen lassen. Das ist aber nicht der Fall. Ebensowenig kann von einer reinen Metallgiftwirkung gesprochen werden. Es kann nur gesagt werden: In den höheren Konzentrationen überwiegt die Metallgiftwirkung, in den niederen die des Sauerstoffs.

Aber in welchem Verhältnis beide Komponenten ineinandergreifen, ist noch unklar. Zu sehen bekommt man nur das Produkt beider Wirkungen, den fertigen k. H., aus dem zunächst ein scheinbar völliges Parallelgehen von Konzentration und bakterizider Wirkung zu schließen ist.

Der Vergleich verschiedener Platten mit verschiedenem Kollargolgehalt lehrt aber, daß die stärkste Giftwirkung zwar der höchsten Konzentration angehört, daß aber für die Oxydation bis zu einer gewissen Grenze die entgegengesetzte Annahme berechtigt erscheint. Denn mit abnehmender Konzentration wird der Sauerstoffeffekt immer deutlicher,

Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

das Uebergreifen des Wachstums auf den Kollargolbezirk im anaëroben Versuch ausgedehnter. Aber man muß sich gegenwärtig halten daß dieses allmähliche Ansteigen der Wirkung zur Peripherie hin außer in noch einen Grund außer sich selbst haben kann, den Abfall der Giftwirkung bei gleichbleibender O_2-Verdichtung. Dieser Vorgang würde zu demselben Bild führen, wie eine bei entsprechender Verdünnung wachsende Sauerstoffwirkung. Entschieden werden kann die Frage nur, wenn die Giftwirkung des Kollargols (Fig. 3) nach Möglichkeit ausgeschaltet ist. Das ist ungefähr von 0,05 : 10 an abwärts der Fall, wie der anaërobe Versuch beweist. Gibt es eine Konzentration, die für eine Oxydationswirkung besonders geeignet ist, so muß an der betr. Stelle das Bakterienwachstum zuerst gehemmt werden. Um diesen Ort festzustellen, wird der Sauerstoff partiell ausgeschaltet. Dies geschieht dadurch, daß die betr. Platte 12 Std. aërob stehen gelassen, dann bespatelt und sogleich auf eine Küstersche Schale montiert wird. Brutschrankaufenthalt 72 Std. Auf diese Weise ist eine mittlere Wirkung zwischen rein aërober und anaërober Züchtung gewährleistet. Bestand die Erwägung zu Recht, daß die Sauerstoffverdichtung ihr Optimum bei einem bestimmten Verteilungsgrad auch nach Ausschalten der Giftwirkung des Kollargols erreicht, so mußte sich, wenn dieses Optimum unterhalb der Konzentration 0,05 : 10 lag, ein Bild erzielen lassen, bei dem an der Kollargol-reicheren Stelle ein besseres Wachstum auftrat als an Kollargolärmeren, daß also z. B. im Bezirk des „k. H." energisches Wachstum auftrat, während es in der Peripherie eine Zone der Hemmung geben mußte. Dieses auffällige Ergebnis, an den Kollargolkonzentrierteren Partien des Agars stärkeres Wachstum als an den Kollargolärmeren, trat bei der angegebenen Methodik ein. Im Zentrum fand sich reichliches Koloniewachstum (Koll. Konz. 0,025 : 10), dann folgte ein Ring von ungefähr $^1/_2$ cm Breite mit an Zahl äußerst spärlichen Einzelkolonien, an diesen anschließend nach außen wieder dichtes Wachstum.

Zuweilen traten die Kolonien im Zentrum bis zur Konfluenz zusammen, während peripher davon Hemmungsringe, die dem optimalen Oxydationsbereich entsprechen, bis zu 1 cm Breite entstanden. (Fig. 5.) Voraussetzung für das Eintreten dieses Effektes war eine Doppelwirkung des Kollargols sowie eine Ueberlegenheit der Oxydationskomponente über die toxische bei genügend großer Kollargoldispersion. Dieser Wechsel zwischen oxydativer und toxischer Wirkung konnte besonders deutlich festgestellt werden, wenn mit dem Kollargolgehalt entweder etwas über oder unter den eben benutzten Wert gegangen wurde. Im ersten Fall näherte man sich der toxischen Grenze (0,075 : 10); es war also zum mindesten in den zentralen Partien der eingegossenen Scheibe eine Stelle zu erwarten, die der Giftwirkung unterlag, d. h. keimfrei geblieben war. Zur Peripherie hin mußte dann erst die Zone des reichlichen Einzelkoloniewachstums (die ihr Entstehen einerseits einer schwindenden Giftwirkung, andererseits dem Fehlen des Sauerstoffeffektes verdankt), auf diese die Hemmungs-(Oxydations)zone folgen. (Fig. 4.) Im zweiten Fall dagegen, bei niedrigerem Kollargolgehalt, würde auch im Zentrum die geringere Konzentration erreicht werden müssen, die bei den höheren Werten nur in der Peripherie auftrat. Es war also zentral wieder Hemmung zu erwarten, und zwar als Folge der Oxydationswirkung, für die jetzt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auch im Mittelpunkt des Kollargolscheibchens der optimale Verteilungsgrad bestand. (Fig. 6.) Diese Platten entstanden sämtlich. (Fig. 3 bis 6.) Dauernd aërobes Wachstum rief bei Fig. 3—6 völlige Keimfreiheit, dauernd anaërobes in Fig. 4—6 Rasenwachstum hervor. Damit ist gezeigt, daß die Erörterungen über das Bestehen einer Sauerstoffwirkung, die erst bei einem gewissen Verteilungsgrad des Metalls ihr Optimum erreicht, durch die Plattenversuche ihre Bestätigung erfahren, und daß zwischen der zentralen Metallsalz- und der — erst peripheren, in geringeren Konzentrationen auch zentralen — Oxydationswirkung streng zu unterscheiden ist. Angeführt sei noch, daß bei den Platten, die statt nach 72 schon nach 24 Std. geöffnet wurden, ein Hemmungsbezirk bestand, der größer war als beim rein aëroben Versuch. Während aber bei den dauernd anaërob (72 Std.) gehaltenen Platten, bei denen man anfangs durch das Glas hindurch die gleiche Hemmung feststellen konnte, nach 48 Std. das geschilderte eigenartige Wachstum im Zentrum auftrat, blieben die nach 24 Std. abmontierten dort infolge des wieder zutretenden Sauerstoffs keimfrei. Es läßt sich also das Wachstum im Bezirk des „k. H." durch Zufügung und Ausschaltung von Sauerstoff gesetzmäßig variieren. Alles dies spricht für den doppelten Mechanismus der Kollargol- und im geringen Grade auch der der Hg- und Cu-Wirkung im Agar. (In einer 2. Mitteilung wird gezeigt werden, daß auch dem Cu, im redestill. Wasser, ein außerordentlich intensives O_2-Verdichtungsvermögen zukommt; cf. seinen oligodynamischen Quotienten.) Diese Zerlegung der Metall-(Cu, Hg, Ag)wirkung auf Mikroorganismen in die chemisch-giftige — Salz-, Fällungsreaktion — nach Nägelischer Nomenklatur und weiterhin in die hier nachgewiesene oxydative bedingt aber für die Auffassung des oligodynamischen Effektes einen anderen Standpunkt. Wohl sind es die Ionen, die an der Wirkung ihren Anteil haben, und die den Adsorptionsgesetzen unterworfen sind. Aber sie rufen in diesen Verdünnungen die Abtötung nicht direkt oder durch Komplexbildung hervor, sondern sie vermitteln nur. Man kann ihre Wirkung ein- und ausschalten allein durch Zuführen oder Abschließen vom molekularen Sauerstoff. Die Tatsache, daß die „chemisch-giftige" Wirkung im Hg- und Kollargolversuch bei einer gewissen Konzentration nachläßt oder verschwindet, und dann eine ganz anders geartete auftritt, und zwar in den schwächsten Konzentrationen[1]) — man vergleiche diese Parallelität mit den Nägelischen Versuchen — gestattet es nunmehr, die oligodynamische Wirkung nicht als einen unendlich abgeschwächten Prozeß der dissoziierten Metallsalze, sondern als etwas von diesem biologisch scharf zu trennendes, als einen Vorgang aufzufassen, bei dem der Sauerstoff ausschlaggebend ist. Je höher die Konzentration, desto mehr Metallsalzwirkung,

1) Der geringe Sauerstoffeffekt beim Cu ist durch die reichlich hohe Konzentration der von Münzen abdiffundierenden Cu-Salze bedingt. Nachdem aber die Metallwirkung in ihre Faktoren zerlegt worden ist und gezeigt wurde, daß die eigentliche oligodynamische Wirkung nur mit dem Sauerstoffeffekt (der sich erst in den schwächsten Konzentrationen an der Grenze Wirksamkeit—Unwirksamkeit einstellt) zu identifizieren ist, muß auf Grund dieser Feststellung ein großer Teil der bisher als oligodynamisch angesprochenen Versuche abgelehnt und als reine Metallgiftwirkung angesprochen werden. Dahin gehören z. B. alle Versuche mit alten Münzen im Agar, Kollargolkonzentrationen über 0,075 : 10.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

je geringer, desto deutlichere Sauerstoffwirkung[1]). Der oligodynamische Effekt der hier untersuchten Metalle ist gleichartiger, die Metallgiftwirkung differenter Natur. Wegen der Einheitlichkeit der oligodynamischen Wirkung läßt sich das Verhältnis von Metall- zu Oxydationswirkung in rechnerische Beziehung bringen. Das Verhältnis der bakteriziden Leistung von Metall- und Sauerstoffwirkung, bezogen auf die Konzentration, ist der oligodynamische Quotient:

$$Q = \frac{K_{(Me)}}{K_{(O_2)}}$$

Er gibt über die Größe der Sauerstoffverdichtung Aufschluß. $K_{(Me)}$ ist die niedrigste hemmende Metallkonzentration bei Sauerstoffausschluß, $K_{(O_2)}$ die niedrigste hemmende Metallkonzentration bei Sauerstoffbeteiligung. $K_{(O_2)}$ ist in seiner Größe abhängig vom O_2-Partialdruck, von der Einwirkungszeit, dem Medium, der verwendeten Bakterienart und -menge und dem Metall selbst. Unter sonst identischen Versuchsbedingungen (bei Vergleichen mit der reinen Metallsalzwirkung) ist nur der O_2-Partialdruck von Einfluß. Bei Vorhandensein einer oligodynamischen Wirkung ist $Q > 1$, im anderen Falle $= 1$.

$Q < 1$ hieße, die bakterizide Wirkung ist bei Sauerstoffabschluß größer als bei Sauerstoffgegenwart.

Im Agar ist für Cu der Quotient nur wenig verschieden von 1, d. h. die oligodynamische Wirkung tritt kaum in Erscheinung. Auch beim Hg läßt sich ein genauer oligodynamischer Quotient, obgleich er erheblich größer als 1 ist, nicht angeben, da es zu einer kompletten Rasenbildung im anaëroben Versuch nicht kommt. Es läßt sich auch hier nur schreiben $Q > 1$.

Für Kollargol ist unter den gewählten Bedingungen $Q = \frac{0{,}05}{0{,}005} = 10$, d. h. es ist eine beträchtliche oligodynamische Wirkung nachweisbar. Für Kupfer in redestilliertem Wasser (der 2. Mitteilung vorweggenommen) steigt der Quotient auf 20.

Eine absolute Grenze läßt sich für die oligodynamische Wirkung nicht angeben. Eine Konzentration, die für 10^6 Keime nur durch Sauerstoffübertragung vernichtend wirkt, mithin oligodynamisch zu nennen ist, kann für 100 Keime infolge der höheren Ionenzahl, die von jedem Einzelmikroorganismus adsorbiert wird, durch Fällungsvorgänge den Typus der Metallgiftwirkung erreichen. Es bezieht sich also der Satz: „die Oligodynamie ist von der Metallsalzwirkung scharf zu trennen", nicht auf eine bestimmte, unveränderlich festgelegte Konzentration, sondern auf das Wesen des Absterbeprozesses. Der Sauerstoffabschluß läßt auf jeden Fall erkennen, ob in der gewählten Verdünnung bei Anwesenheit von soundsoviel Keimen im aëroben Versuch eine oligodynamische Wirkung vorhanden ist oder nicht.

Zum Schluß sei der oligodynamische Effekt in seiner Auswirkung auf die Zelle untersucht. Betrachtet man zunächst die Platten, bei denen der Sauerstoff ausgeschaltet wurde, so scheint das Wachstum über der metallsalz- oder kolloidhaltigen Stelle der Erfahrung, daß zwei Hemmungsvorgänge sich in ihrem Einfluß auf das Bakterienwachstum

1) Ob diese Feststellungen an Lebensvorgängen der Bakterien sich auf Zellsysteme übertragen lassen, ist hieraus nicht entscheidbar. Die vielen Hinweise bei Schade (l. c.), die für eine besondere Wirkung des Hg bei stärkster Dissoziation sprechen desgl. J. Schumacher, l. c. und Buschke u. Sklarz (31)] lassen auch im Gewebe an den auseinandergesetzten Mechanismus denken.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

summieren, zu widersprechen. Beim Kollargol, bei dem die Verhältnisse am klarsten liegen, ist der Grund darin gegeben, daß einerseits die Giftwirkung gering ist, andererseits der zerstörende Oxydationsvorgang die Hemmung durch Sauerstoffentziehung weit überwiegt.

Worin besteht die Sauerstoffwirkung, der oligodynamische Effekt? Die Sauerstoffentziehung hemmt sichtbar das Wachstum des Bakterienrasens, und man könnte in den verringerten Stoffwechselprozessen den Grund für eine geringere Wirksamkeit der Metalle sehen. Dies entspräche ungefähr dem Mechanismus, den J. Loeb (32), dessen Untersuchungen über die Giftwirkung von Salzen usw. bei O_2-Mangel schon nahe an die Erklärung der oligodynamischen Wirkung heranführten und sie nur wegen der zu hoch gewählten Konzentrationen nicht erreichten, an den frisch befruchteten Eiern von Seeigeln annahm. Da er aber meist mit Substanzen (in hyper- und hypotonischen Lösungen) arbeitete, die für eine Sauerstoffaktivierung nicht in Frage kommen, ist für seine Versuche eine direkte Abhängigkeit der Giftwirkung von der Intensität der Stoffwechselvorgänge anzunehmen. Bei den in den vorliegenden Versuchen verwendeten Metallen haben wir es aber mit ausgesprochenen Sauerstoffverdichtern und -überträgern zu tun. Nun zeigten Paul, Birstein und Reuß (33), daß die Widerstandsfähigkeit von Staphylokokken in Sauerstoff-Stickstoffgemischen mit steigendem O_2-Partialdruck sinkt, und sie erklären diese Wirkung auf Grund einer These von van't Hoff, der im molekularen Sauerstoff solchen von atomarer Beschaffenheit annimmt. Seine Gegenwart schädige die Bakterien. Erreicht man diesen Effekt durch die Partialdruckverschiebung der Gase, so ist das Auftreten von atomarem Sauerstoff, wenn Aktivatoren wie Cu, Hg, Ag zugegen sind, die die Nebenvalenzen des O_2 binden und so die Bindung $\overset{O}{\underset{O}{\|}}$ lockern, „aktivieren" auch in Flüssigkeiten und Gallerten wahrscheinlich[1]).

Mit der O_2-Verdichtung und -Aktivierung an der Bakterienoberfläche vermittels des adsorbierten Metallions setzt der oligodynamische Absterbevorgang ein. Zwei Prozesse sind denkbar. Entweder es handelt sich um eine direkte Oxydation durch den verdichteten Sauerstoff. Oder aber der aktivierte Sauerstoff reißt den labilen Wasserstoff (35) der Zelle an sich[2]); hier läge eine Dehydrierung vor. Nach der erfolgten Ueberführung von aktiviertem Sauerstoff mittels Wasserstoff in H_2O über H_2O_2 als intermediärem Produkt häufen sich erneut Sauerstoffatome an dem Metallion an, die zu ihrer Absättigung Wasserstoff benötigen, der von der Bakterienzelle geliefert wird. Die Oligodynamie ist also eine Oxydo-Dehydrierung. In beiden Fällen, der Dehydrierung sowohl wie der direkten Oxydation, kommt es zu einer Anhäufung von

---

1) Den formelmäßig schwer faßbaren Begriff der Aktivierung hat H. Wieland (34) für Wasserstoff durch Palladiumschwarz folgendermaßen symbolisiert:

$\begin{pmatrix} H \\ | \\ H \end{pmatrix}$ · · Pd = Lockerung der Wasserstoffatombindung durch Absättigung der Nebenvalenzen.

2) Diese Form der Dehydrierung unterscheidet sich von der durch Palladium bedingten dadurch, daß hier das Metallion nicht direkt den Wasserstoff akzeptiert, sondern erst vermittels des verdichteten Sauerstoffes. Vgl. auch den Vorgang an den Leukobasen des Methylenblaus, Malachitgrüns usw.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Oxydationsprodukten; in ihr ist der Absterbevorgang der Zelle begründet.

Wenn die „sogenannte oligodynamische Metallwirkung", wie sie meist in Anerkennung mancher bislang noch nicht gelöster „merkwürdiger Tatsachen" (36) zitiert zu werden pflegte, nichts anderes darstellen sollte als „eine minimale chemisch-giftige Wirkung" (16) weshalb hat man dann überhaupt den Namen oligodynamisch so lange beibehalten? Nachdem die morphologischen Gesichtspunkte Nägelis (37) vernachlässigt worden waren und wesentlich Bakterien, Fermente und Toxine als Testobjekte dienten, hätte nach Erkennung der (angeblichen) Gleichheit der chemischen Vorgänge bei hohen und niederen Konzentrationen die Gleichsetzung der Bezeichnung, d. h. das Aufgeben des Oligodynamiebegriffes folgen müssen. Davon hatte aber nicht nur das historische Gefühl, sondern auch die Empfindung abgehalten, daß das Vorhandensein der Metallionen allein das Wesen der Oligodynamie nicht ausreichend erklärt, daß vielmehr ein weiterer Faktor, dessen Existenz im vorstehenden bewiesen wurde, noch ausstehen mußte.

Zusammenfassung.

Die oligodynamische Metallwirkung ist bisher als reine Metallsalz-(Ionen-)Wirkung aufgefaßt worden, die chemisch genau so verlaufen sollte, wie die Abtötung bei höheren Konzentrationen. Dieser Ansicht wird auf Grund von Plattenversuchen mit Kollargol und Sublimat (besondere Anaërobenmethodik) widersprochen und an ihre Stelle die Wachstumshemmung bzw. Abtötung durch den an den Ionen verdichteten Sauerstoff gesetzt.

1) Die bakterizide Wirkung des Cu, Hg und Kollargol im Agar wird in zwei Teilvorgänge zerlegt, in eine Metallgift- und in eine Sauerstoffwirkung.

2) Nach erfolgter Adsorption der Metallionen an die Zellwand (Spiro) kommt die Oligodynamie Nägelis allein bei Sauerstoffgegenwart zustande.

3) Die Metallionen vermitteln nur die Wirkung, sie sind an der Bakterienvernichtung nicht direkt beteiligt.

4) Allein die durch die Sauerstoffverdichtung ausgelösten Prozesse sind die der Oligodynamie entsprechenden Vorgänge. Sie treten erst in den niedrigsten Konzentrationen auf und sind von der Metallsalzwirkung scharf zu trennen.

5) Das Kollargol läßt im Agar ein starkes, das Hg ein schwaches Sauerstoffverdichtungsvermögen erkennen. Beim Cu ist nur eine Randzone am keimfreien Hof in die Sauerstoffwirkung einzubeziehen.

6) Der Unterschied in der Größe der Sauerstoffwirkung beruht zum Teil auf der zu hohen Konzentration, die eine bei dem betreffenden Metall mögliche Sauerstoffverdichtung durch Vergiftung der Bakterien ausschaltet.

7) Versuche mit Kupfer- und Silbermünzen im Agar, wie sie bisher vielfach zu Demonstrationszwecken benutzt wurden, sind fast stets als Metallgiftwirkung, nicht als oligodynamische aufzufassen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

8) Es gibt im Agar eine optimale Sauerstoffwirkung; sie hat einen besonderen Verteilungsgrad des Metallsalzes zur Voraussetzung.

9) Sauerstoffwirkung und Metallgiftwirkung lassen sich in rechnerische Beziehung bringen. Das Verhältnis der bakteriziden Leistung eines Metalls bei Sauerstoffabwesenheit zu dem bei Sauerstoffgegenwart, bezogen auf die Konzentration, ist der oligodynamische Quotient

$$Q = \frac{K_{(Me)}}{K_{(O_2)}}$$

10) Die durch die Sauerstoffverdichtung ausgelösten Prozesse sind a) direkte Oxydationen, b) Dehydrierungen.

Literatur.

1) Spiro, München. med. Wochenschr. 1915. Nr. 47. S. 1602; Biochem. Zeitschr. Bd. 74. 1916. S. 275. — 2) Doerr, R., B. Z. Bd.106. S. 110; Bd. 107. S. 207; Bd. 113. S. 58; Ders. u. Berger, ebenda. 131. 1922. S. 359. — 3) Drechsel, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 53. 1921. S. 289. — 4) Messerschmidt, Ztschr. f. Hyg. Bd. 82. 1916. S. 288. — 5) Süpfle, Ztschr. f. ges. Hyg. Bd. 1. 1922. S. 129. — 6) Pfeiffer u. Kadletz, Wien. klin. Wochenschr. 1917. Nr. 39. S. 1221. — 7) Luger u. Baumgarten, ebenda. 1917. Nr. 39. S. 1223—1226. — 8) Gräfin v. Linden, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. 1922. S. 310. — 9) Löhner, Wien. klin. Wochenschr. 1919 Nr. 37.; Ders. u. Markovits, Arch. f. ges. Phys. Bd. 195. 1922. S. 417. — 10) Schlossberger, Med. Klin. Bd. 4. 1918. S. 204. — 11) Laubenheimer, Ztschr. f. Hyg. Bd. 92. 1921. S. 78. — 12) Salus, Wien. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 51. S. 1220. — 13) Acèl, B. Z. Bd. 112. 1920. S. 23. — 14) Bechhold, Kolloidztschr. Bd. 25. 1919. S. 158. — 15) Afonso, Compt. rend. Soc. biol. T. 83. p. 1179. — 16) Ficker, Ztschr. f. Hyg. Bd. 28. 1898. S. 68. — 17) Rankin, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 48. 1911. S. 562. — 18) Miller, zit. nach Süpfle, l. c. — 19) s. S. 114. — 20) Gräff, Zieglers Beitr. z. pathol. Anat. Bd. 70. 1922. S. 1. — 21) Richter-Quitner u. Falta, B. Z. Bd. 115. 1921. S. 39. — 22) Schumacher, J., Klin. Wochenschr. 1922. Nr. 37. S. 1859; Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. S. 116. — 23) Schade, Die Bedeutung der Katalyse i. d. Medizin. Kiel (Mühlau) 1907. — 24) Izar, B. Z. Bd. 20. 1909. S. 268. — 25) Ascoli u. Izar, Berlin. klin. Wochenschr. 1907. Nr. 21. S. 659. — 26) Manteufel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. S. 248. — 27) van Riemsdijck, M., ebenda. Bd. 88. 1922. S. 229. — 28) Heermann, Mitt. a. d. Kgl. Mat.-Prüf.-Amt. 1917. S. 277; Ders., Chemikerztg. 1918. S. 85 u. 337. — 29) Friedberger, Sitzung Berlin. Mikrob. Ges. Nov. 1922. — 30) Seiffert, W., B. Z. Bd. 129. 1922. S. 50. — 31) Buschke u. Sklarz, Dtsch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 46. S. 1538. — 32) Loeb, J., B. Z. Bd. 2. 1906. S. 94; Bd. 29. 1910. S. 80. — 33) Paul, Birstein u. Reuß, B. Z. Bd. 25. 1910. S. 390. — 34) Wieland, H., Erg. d. Phys. Bd. 20. 1922. S. 477; Ders., B. D. Chem. Ges. Bd. 54. 1921. S. 2353. — 35) Maassen, Arb. a. d. K. Ges.-Amt. Bd. 21. 1904. S. 377. — 36) Gotschlich, Hdb. d. path. Mikroorg. v. Kolle-Wassermann. Bd. 3. 1911. S. 468. — 37) Nägeli, Denkschr. d. Schw. Ges. f. d. ges. Naturw. Bd. 33. 1893. I.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Aërob. Konzentration des $HgCl_2$-Agarscheibchens: 1:6000. Absolut keimfreier Hof.

Fig. 2. Anaërob, $HgCl_2$ 1:6000. Wachstum im Bezirk des eingegossenen Scheibchens.

Fig. 3. Kollargol: 0,1:10. O_2— partiell entzogen. Fast reine Giftwirkung. Oxydationswirkung am äußersten Rande des keimfreien Hofes anzunehmen.

Fig. 4. Kollargol: 0,075:10. O_2— partiell entzogen. Zentral: Giftwirkung. Keimfreiheit. Dann: Wachstumsring (aufgehobene Gift- bzw. noch nicht entwickelte Sauerstoffwirkung). Peripher: Hemmung durch Oxydation.

Fig. 5. Kollargol: 0,025:10. O_2— partiell entzogen. Zentral: aufgehobene Gift- bzw. noch nicht entwickelte Sauerstoffwirkung, Rasenwachstum. Peripher Hemmung durch Oxydation.

Fig. 6. Kollargol: 0,006:10; O_2— partiell entzogen. Reine Oxydationswirkung. Günstiger Verteilungsgrad für den Sauerstoffeffekt. Gleichmäßig spärliches Einzelkoloniewachstum.

Die rein anaërob gezüchtete Kollargolplatte, bei der es zum unbeschränkten Rasenwachstum im Bezirk des „k. H." kommt (Konzentration 0,05:10) ist nicht abgebildet worden, da sie photographisch nichts Charakteristisches bietet. Alle Fig. (1–6) zeigen aus Raumersparnis nur den „keimfreien Hof" und seine nächste Nachbarschaft. Abb. in natürlicher Größe.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

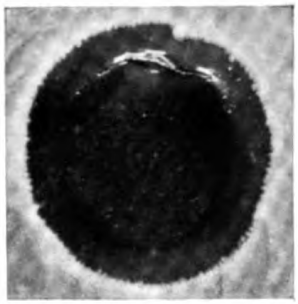


Fig. 1.

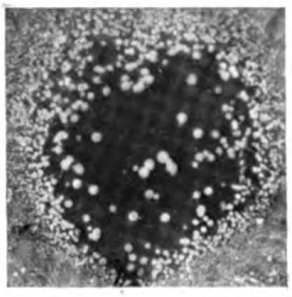


Fig. 2.

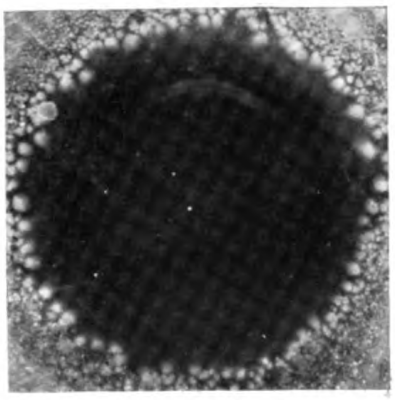


Fig. 3.

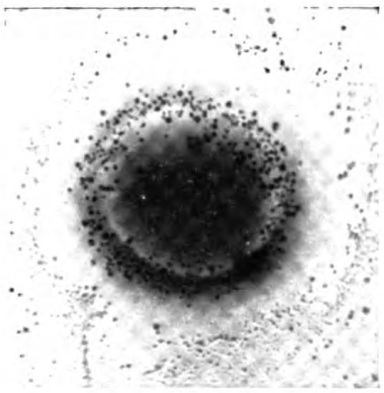


Fig. 4.

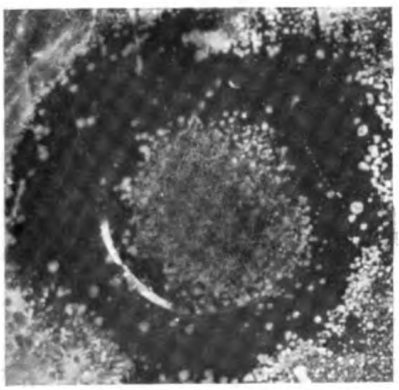


Fig. 5.

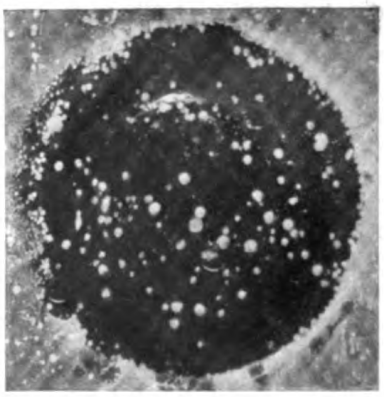


Fig. 6.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Ueber Farbstoffbildung bei 2 Xerosestämmen.

[Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Institut der Universität Erlangen.]

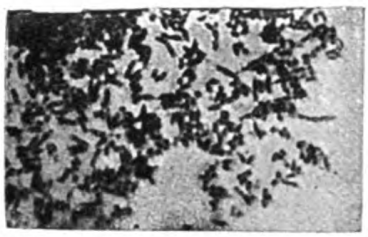
Von Dr. **Wilhelm Rother.**

Mit 3 Abbildungen im Text.

Bei der Untersuchung von Scheidensekreten fand ich im vorigen Jahre einen Xerosestamm (I), der durch rote Farbstoffbildung auffiel. Einen weiteren Stamm (II) dieser Art konnte ich jetzt auf einer längere



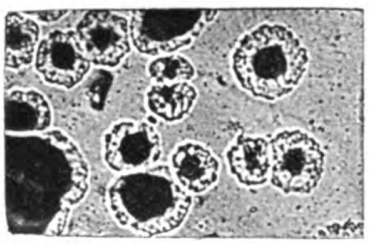
Stamm I 1000×.



Stamm II 1000×.

Zeit beiseite gestandenen Gelatineplatte feststellen, die zur Abimpfung unter dem Mikroskop offen gestanden war. Eine Luftinfektion war deshalb wahrchseinlich.

Daß es sich nicht um Diphtheriebazillen handelte, zeigte in beiden Fällen der Tierversuch.



Stamm II Kolonien 30×.

Ueber Diphtheriestämme mit gelber bzw. schwach roter Farbstoffbildung berichteten Winslow und v. Przewoski. Ersterer stellte fest, daß sie auf Loeffler-Serum, dagegen nicht auf gewöhnlichem Agar eintrat. Meine Xerosestämme verhielten sich ähnlich. Auf gewöhnlichem Agar waren die Kolonien nur andeutungsweise rötlich. Wurde 1 Proz. Traubenzucker zugesetzt, so trat nach einigen Tagen starke Rotfärbung auf. Auf Loeffler-Serum entstand ein üppiger Belag, der nach 48 Std. gelbe Färbung aufwies, die im Laufe der folgenden Tage in Rot überging.

Kruse berichtet, daß die Farbstoffbildung bei manchen Bakterien in hohem Maße von dem Gehalt der Nährböden an Phosphaten und Magnesiumsulfat abhängig ist. Von Kohlehydraten sollen besonders Kartoffel, Reis und Stärke diese begünstigen. Dabei sollen die genannten Substanzen nicht in Farbstoff verwandelt werden, sondern nur das Wachstum im allgemeinen fördern.

Bei meinen Xerosestämmen kann anscheinend Traubenzucker das Ausgangsmaterial für den Farbstoff bilden. In zuckerfreier Nährbrühe (Gärprobe!) bildete sich nach 1–2 Tagen etwas krümeliger Bodensatz und nach weiteren 2 Tagen eine Haut auf der Oberfläche, die schwach rötliche Färbung aufwies. Bei Anwesenheit von Traubenzucker dagegen zeigte die Haut starke Rotfärbung. Ich konnte durch Vergärung mit Preßhefe eine Abnahme des Zuckergehaltes feststellen. Er war in einer

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

8 Tage alten Kultur, die 1 Proz. Traubenzucker enthalten hatte, auf die Hälfte zurückgegangen. Säurebildung war durch Titration nicht nachzuweisen.

Im Aussehen der Kolonien beider Stämme besteht kein Unterschied (Fig.). Auf zuckerhaltigem Nähragar fehlt der helle Rand. Verschieden ist die Gestalt der Stäbchen. Sie sind bei Stamm I schlanker und weisen reichliche Körnchenbildung auf (Fig.). Stamm I bildet tiefroten, II gelbroten Farbstoff. Dieser ist in Chloroform und Alkohol, jedoch nicht in Aether und Wasser löslich. Das Wachstum ist bei Brutschranktemperatur üppiger.

Für die Ausführung der Photogramme bin ich Herrn Prof. Heim zu großem Dank verpflichtet.

Literatur.

Kruse, W., Mikrobiologie. Leipzig 1910. S. 784. — v. Przewoski, W., Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. S. 5. — Winslow, Ebenda. Abt. I. Ref. Bd. 33. S. 276.

Ausgeschriebene Preise.

Frau Dr. Sofie A. Nordhoff-Jung, Washington, hat unter der Bezeichnung „Dr. Sofie A. Nordhoff-Jung Cancer-Research-Prize" den Betrag von 500 Dollars jährlich gestiftet. Der Preis ist zur Förderung der Krebsforschung bestimmt. Er wird durch eine Kommission von Mitgliedern der Münchener Medizinischen Fakultät verteilt und soll zum ersten Male Ende 1923 verliehen werden. Der Kommission gehören die Herren Borst, Döderlein, Sauerbruch und als Vorsitzender Herr v. Romberg an. Der Preis soll eine Anerkennung für die hervorragendste Arbeit der Weltliteratur auf dem Gebiete der Krebsforschung sein, die in der der Preisverteilung vorhergehenden Zeit erschienen ist. Eine Bewerbung um den Preis ist ausgeschlossen. Die Kommission bittet aber, einschlägige Arbeiten ihr zuzusenden.

Inhalt.

Battaglia, Mario, Encephalitis bei experimenteller Trypanosomiasis, S. 94.
Bieling, R., Eine Methode zur quantitativen Bestimmung der Atmung von Mikroorganismen und Zellen, S. 49.
Gildemeister, E., Ueber Gewinnung keimfreier Schutzpockenlymphe, S. 109.
—, u. **Herzberg, Kurt,** Ueber den Wert des Kartoffelstärkepeptonwassers nach Kodama und Takeda für die praktische Choleradiagnose, S. 53.
Herzberg, Kurt, Die Beteiligung des Sauerstoffes bei der oligodynamischen Metallwirkung. I. Mitteilung. Mit 1 Tafel, S. 113.
Ishiwara, Fusao, Beitrag zur Frage des Influenzaerregers nach Versuchen an Menschen und Tieren. Mit 3 Kurven im Text, S. 55.
Kratzeisen, Ernst, Ueber postmortale Spirochätenvermehrung in der Leiche, S. 91.
Mayer, Martin, Bemerkung zu der Arbeit von Karl Hesselbach: Die trypanozide Wirkung von „Bayer 205" auf Trypanosoma equiperdum, S. 96.
Neumann, Franz, Zwei Fälle von spontan ohne Ansteckung entstandener, originärer Kaninchensyphilis (Genitalspirochätose), S. 100.
Puder, Alexander, Bemerkungen über die Anatomie und die Zucht der Nematode Rhabditis pellio, S. 97.
Rother, Wilhelm, Ueber Farbstoffbildung bei 2 Xerosestämmen. Mit 3 Abbildungen im Text, S. 127.
Shiga, Mitsuo, Weitere Studien zur Frage der Aetiologie der Ozaena, S. 78.
Steck, Werner, Weitere Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Keim- und Körperzellgehalt aseptisch gewonnener Einzelviertelmilchen aus gesunden Kuheutern. Mit 4 Kurven im Text, S. 61.
Vorschütz, Josef, Beruht die Impf-Gruber-Widal-Reaktion auf denselben physiko-chemischen Momenten wie die unspezifische und geht erstere ebenso parallel der Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten wie letztere?, S. 105.
Ausgeschriebene Preise, S. 128.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 90. Heft 3.
Ausgegeben am 5. April 1923.

Nachdruck verboten.

Eine Typhusepidemie und ihre wirtschaftlichen Folgen.

[Aus dem Staatlichen Medizinal-Untersuchungsamt Breslau.]

Von Prof. Dr. med. **Kathe** und Dr. med. **Schaede.**

Unser im allgemeinen höchst erfolgreicher Seuchenschutz hat im Laufe der Zeit einen nicht ungefährlichen Optimismus erwachsen lassen und zwar nicht nur in Laienkreisen, eine Auffassung, nach welcher unsere Medizinalgesetzgebung und -verwaltung und ihre Träger in allzu starker geistiger Abhängigkeit von den Lehren der wissenschaftlichen Hygiene verharrten, vor allem in der Seuchenbekämpfung nach Robert Kochs Richtlinien zu sehr den Kernpunkt ihrer Aufgaben sähen und darüber die so viel wichtigere Sozialhygiene, die Hygiene des Gesellschaftskörpers, vernachlässigten. Nur Seuchen mit ausgesprochen sozialem Hintergrunde, wie Tuberkulose und Geschlechtskrankheiten, verlangten nach dieser Auffassung noch eine besondere Beachtung.

Die Frage, ob und inwieweit sozialhygienische Gesichtspunkte auf dem Gebiete der Medizinalgesetzgebung und -verwaltung zu wenig Beachtung gefunden haben könnten, wollen wir hier unerörtert lassen; aber dagegen glauben wir uns wenden zu müssen, daß wir ein Zuviel des Seuchenschutzes hätten, daß es Zeit sei, nach der Richtung abzubauen.

Ein Zurückstellen der Seuchenbekämpfung gegenüber anderen Forderungen wäre doch nur begründet, wenn die Seuchen durch Abnahme der Virulenz ihrer Erreger oder infolge gesteigerten Immunitätszustandes der Bevölkerung erheblich an Gefährlichkeit verloren, oder aber die allgemeinen hygienischen Verhältnisse ein solches Maß der Vervollkommnung erreicht hätten, daß die Seuchen nicht mehr festen Fuß fassen und sich ausbreiten könnten. Nun, eines ist so wenig der Fall wie das andere.

Die schwere Krise, die die Volksgesundheit noch nicht überwunden, die noch viel schwerere wirtschaftliche, in der wir mitten darin stehen, verpflichten uns mehr denn je, unser gesamtes Rüstzeug der Seuchenverhütung und Bekämpfung bereit zu halten. Mit einem von unserem Standpunkte aus sehr erfreulichen Nachdruck hat sich der preußische Volkswohlfahrtsminister in einer seiner Haushaltsreden im Abgeordnetenhause zu dieser Auffassung bekannt. Im Hinblick auf die Erfolge des Seuchenschutzes in der Kriegszeit sagte er: „Das könnte zu falschen Deutungen führen, als ob die Gefahr überhaupt nicht so groß sei. Aber unsere Aufmerksamkeit darf gerade hier nicht erlahmen, denn kaum ist etwas verhängnisvoller, als eine verbreitete, akute Seuche. Ein Typhusausbruch von nur einigen hundert Erkrankungsfällen führt nicht nur zu einem beklagenswerten und vermeidbaren Verlust von Menschenleben. Der durch diesen Krankheitsausbruch herbeigeführte Kostenaufwand kann den Haushalt der betreffenden Gemeinde auf Jahre ruinieren."

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vermutlich hatte der Volkswohlfahrtsminister bei diesen Ausführungen eine Typhusepidemie im Sinne, die wir im Vorjahre im wichtigsten Industriegebiet Mittelschlesiens, im Waldenburger Bezirk, in den Gemeinden Dittersbach und Oberwaldenburg, erlebten, die die betreffenden Gemeinden wirtschaftlich aufs schwerste erschütterte, und deren finanzielle Liquidation bis heute vergeblich versucht wurde.

Diese Typhusepidemie, um deren ursächliche Klärung und höchst erfolgreiche Bekämpfung sich die zuständigen staatlichen Medizinalbeamten, Kreismedizinalrat Dr. Hübner und Kreisassistenzarzt Dr. Sommerfeld, große Verdienste erworben haben, und die bakteriologisch zu bearbeiten unsere Aufgabe war, entwickelte sich Anfang Juli 1921 schlagartig in wenigen Tagen zu voller Höhe. Die schroff ansteigende Kurve der täglichen Zugänge, die am 8. und 9. Juli mit je 30 Typhusmeldungen ihren höchsten Punkt erreichte, sank fast ebenso schnell wieder ab, um sich dann bis in den Oktober und November hinein ganz allmählich zu verlaufen.

Diese äußerst charakteristische Kurve, die restlose Uebereinstimmung von Typhus- und Wasserfeld ließen von vornherein gar keinen Zweifel daran aufkommen, daß die beiden Gemeinden gemeinsame Wasserleitung der Weg gewesen, auf dem die Typhusbazillen in die Bevölkerung gelangt waren. Weitere Erhebungen ergaben auch als wahrscheinliche Einbruchsstelle der Typhusbazillen in einem der Sickerleitungsstränge einen Punkt, an dem das berüchtigte „Stichrohr" eine Verbindung mit einem kleinen Oberflächengewässer hergestellt hatte. In der Familie eines Anliegers hatte in der kritischen Zeit Typhus geherrscht, wie kulturell und serologisch nachgewiesen werden konnte. Vermutlich hätte es aber trotz Typhus in der Familie des Anliegers, trotz des Stichrohres vom Bache zum Leitungsstrang keine so riesige Epidemie von über 600 Erkrankungen gegeben, vielleicht wäre der schwere wassertechnische Fehler ohne jede Folge geblieben, wenn nicht auch noch eine in den Leitungsstrang eingeschaltete Filteranlage, die der Reinigung der recht oberflächlichen Sickergallerien entstammenden Wässer dient, gerade in der kritischen Zeit ganz unsachgemäß bedient worden wäre.

Die Schwierigkeit und Größe der Aufgabe, vor die sich die Lokalbehörden bei der Bekämpfung dieser Typhusepidemie gestellt sahen, ergab sich aus den wirtschaftlichen, sozialen und hygienischen Verhältnissen des Waldenburger Industriegebietes und im besonderen der beiden Gemeinden.

Die Kreisstadt Waldenburg, das Industriezentrum, geht ohne bemerkenswerte räumliche Trennung in die Gemeinde Oberwaldenburg und diese wieder in die Gemeinde Dittersbach über. Die Verwaltungen sind getrennt, doch haben Dittersbach und Oberwaldenburg einen Zweckverband für gemeinsame Wasserversorgung gebildet.

Die Bevölkerung, die, milde ausgedrückt, sehr schwierig zu behandeln ist, arbeitet vorwiegend im Bergbau, d. h. also in Betrieben, die jetzt volkswirtschaftlich von ganz besonderer Bedeutung sind und einen Ausfall an Arbeitskräften am schwersten ertragen können. Die Bemühungen, die Produktion zu steigern, haben einen starken Zuzug an Arbeitskräften zur Folge gehabt, infolgedessen ist die Wohnungsnot, die Wohnungsüberfüllung eine selbst für Schlesien ungewöhnlich große. Die Bedingungen für das Umsichgreifen der Epidemie lagen also besonders günstig, zumal Möglichkeiten der Isolierung von Patienten in einigen, den Gemeinden gehörenden Krankenhäusern zunächst nicht bestanden.

Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Wohl konnten die beiden Krankenanstalten in der Stadt Waldenburg Typhuskranke aufnehmen, doch nur in beschränkter Zahl. Im Knappschaftslazarett mit seinen 200 Betten standen zunächt 14 zur Verfügung, 67 weitere wurden noch frei gemacht, im ganzen also 81. Im Kreiskrankenhause mit seinen 120 Betten, das eine Isolierabteilung nicht besaß, wurden die Bedingungen zur Aufnahme von 65 Patienten geschaffen.

Der verantwortliche Medizinalbeamte war sich aber schon am ersten Tage darüber nicht im Zweifel, daß nur die restlose Isolierung aller Patienten in Krankenanstalten die Gewähr bot, die Epidemie einzudämmen. Da die Isolierräume der bestehenden Krankenhäuser den zu erwartenden gewaltigen Zustrom nicht zu fassen vermochten, entschloß er sich zur Errichtung eines Behelfskrankenhauses: eine große Schule wurde geräumt, auf Lastautos wurden Betten und sonstige Einrichtungsgegenstände, von Lazaretten, Sanatorien etc. zur Verfügung gestellt, herangeschafft, und bereits am 11. Juli, d. h. also nach 4 Tagen, konnten das Notlazarett in Benutzung genommen, 30 Betten belegt werden. Bald waren Unterbringungsmöglichkeiten für 300 Patienten geschaffen. 5 Aerzte, zumeist ortsansässige, 12 Schwestern, 6 barmherzige Brüder, 11 Mitglieder der freiwilligen Sanitätskolonne, 1 Badefrau, 1 Lazarettinspektor und das erforderliche Küchen- und Waschpersonal wurden eingestellt.

Auf diese Weise gelang es, von den 639 Typhuskranken der Epidemie 630 in Anstaltspflege und -absonderung zu bringen, ein Erfolg der Umsicht und Tatkraft des verantwortlichen Medizinalbeamten, wie er bisher wohl kaum je erreicht wurde.

Das Notlazarett hat gut gearbeitet und auch dadurch seine Daseinsberechtigung erwiesen.

Es wurden verpflegt[1])		Es starben[1])
Im Notlazarett	497 Kranke	39 = 7,9 Proz.
„ Kreiskrankenhause	126 „	10 = 8 „
„ Knappschaftslazarett	123 „	20 = 17 „

Die einzelnen Fälle wurden nicht nach der Schwere ausgesucht, sondern gleichmäßig auf die Krankenanstalten verteilt.

Ist zweifellos die schnelle Eindämmung der Epidemie in erster Linie den radikalen Absonderungsmaßnahmen zuzuschreiben, so trug zu dem Erfolge gewiß auch die strenge Durchführung aller der in Betracht kommenden Anordnungen des Landesseuchengesetzes vom 28. Aug. 1905 sowie der neuen Desinfektionsvorschriften vom 8. Febr. 1921 bei. Näher auf alle diese Einzelheiten hier einzugehen, würde uns zu weit führen.

Wie erfolgreich diese Maßnahmen in ihrer Gesamtheit gewirkt haben, geht daraus hervor, daß einmal trotz der regen Verkehrsverhältnisse im Industriegebiet die Epidemie nicht über die Gemeinden Dittersbach und Oberwaldenburg hinausgriff, und daß ferner nach unseren Berechnungen von den 639 Erkrankungsfällen 425 = 66,5 Proz. auf Infektion mit dem Leitungswasser und 214 auf anschließenden Kontakt zurückzuführen sind. Zum Vergleich sei erwähnt, daß bei einer ganz ähnlichen Typhustrinkwasserepidemie im oberschlesischen Industriegebiet im Sommer 1920 nach den amtlichen Berichten (Gesundheitswesen des preußischen Staates

1) In diesen Zahlen sind noch 107 Erkrankungs- bzw. 7 Todesfälle einer anderen Typhusepidemie des Kreises Waldenburg enthalten, die sich im August und September entwickelte, aber mit der Dittersbacher nicht in Zusammenhang stand.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1920. S. 40) 270 Fälle auf Wasser =, 250 auf Kontaktinfektionen zurückzuführen waren.

Die Typhusepidemie in Dittersbach-Oberwaldenburg umfaßte schließlich 639 Erkrankungen mit 62 Todesfällen, die Sterblichkeit war also mit 9,7 Proz. eine mittlere. In Preußen betrug sie

1918 = 17,7 Proz.,
1919 = 15,2 „
1920 = 13,3 „

Es erkrankten männliche Personen 227, davon starben 23 = 10,1 Proz.,
„ „ weibliche „ 412, „ „ 39 = 9,4 „

Daß der vorwiegend im Haushalte beschäftigte Teil der weiblichen Bevölkerung stärker an der Erkrankungsziffer beteiligt ist, als der männliche, erscheint bei einer Trinkwasserepidemie ganz selbstverständlich.

Der durchschnittlich milde Verlauf der Erkrankungen bei Kindern trat auch während dieser Epidemie in Erscheinung.

Es erkrankten 206 Personen unter 14 Jahren, davon starben 11 = 5,3 Proz.
„ „ 433 „ über 14 „ „ „ 51 = 9,7 „

Die Epidemie erschütterte die beiden von ihr betroffenen Gemeinden nach jeder Richtung aufs schwerste.

Während in Preußen die Zahl der Typhustodesfälle, auf 10000 Lebende berechnet, von 2,64 im Jahre 1887 allmählich absank auf 0,34 im Jahre 1913 und auch 1920 ebenso wie 1907 nur 0,58 betrug, belief sie sich in den beiden Gemeinden 1921 auf 32,6 auf 10000 Lebende.

Selbst die Tuberkulose, von der der amtliche Bericht über das Gesundheitswesen des preußischen Staates in den Jahren 1919/20 sagt: „sie steht unter den übertragbaren Krankheiten nach dem Umfange ihres Auftretens und ihrer schwerwiegenden Bedeutung für die Volksgesundheit auch während des Berichtsjahres an erster Stelle", — selbst die Tuberkulose wurde in den beiden Gemeinden, was die Sterblichkeitsziffern anbetrifft, im Epidemiejahre durch den Typhus in den Schatten gestellt. Während in Preußen im Jahrzehnte 1911—1920 etwa 17 auf 10000 Lebende jährlich an Tuberkulose starben, betrug die Ziffer im gleichen Zeitraume für die beiden Gemeinden ungefähr 13, d. h., die Lebenshaltung der vorwiegend im Bergbau und in der Industrie tätigen Bevölkerung war in diesem Zeitraume, abgesehen von den Wohnungsverhältnissen, keine ungünstige gewesen.

In den 5 Monaten der Epidemie starben in Dittersbach und Oberwaldenburg $2^1/_2$mal soviel Menschen an Typhus, als im Laufe eines ganzen Jahres an Tuberkulose. Die Typhussterblichkeit war also in diesem Jahre mehr als 5mal so groß, als die der Tuberkulose im Jahresdurchschnitt der letzten 10 Jahre, zu denen die 4 Kriegsjahre mit ihren unheilvollen Folgen gerade hinsichtlich der Tuberkulose rechnen.

Nun zu den wirtschaftlichen Auswirkungen der Epidemie im engeren Sinne:

	Die Zahl der Verpflegungstage betrug	Es wurden Kranke verpflegt	Auf den einzelnen Kranken entfielen Verpflegungstage
Im Notlazarett	16273	497	33
„ Kreiskrankenhause	5337	126	42
„ Knappschaftslazarett	4491	123	37
Zusammen	26101	746	35 im Durchschnitt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ein durchschnittlicher Krankenhausaufenthalt von 35 Tagen für den einzelnen Typhuskranken ist sehr wenig. Diese niedrige Durchschnittszahl erklärt sich einmal daraus, daß der Anteil der Kinder ein sehr großer war (nahezu $^1/_3$ aller Erkrankten), und ferner aus dem Bestreben, so schnell als möglich Betten für Neuaufnahmen freizumachen.

Wie erwähnt, trat im Verlaufe der Dittersbach-Oberwaldenburger Epidemie unabhängig von ihr im Waldenburger Kreise noch eine kleinere Typhusepidemie auf, deren Patienten fast ausschließlich dem Notlazarett überwiesen wurden; auch sonst ereigneten sich im Versorgungsgebiet der Waldenburger Krankenanstalten in der 2. Hälfte des Vorjahres, wie auch sonst regelmäßig, eine Reihe sporadischer Typhusfälle, die in Krankenhausbehandlung kamen. Diese im ganzen 107 Typhusfälle mit 7 Todesfällen sind in der Gesamtziffer von 746 Erkrankten mitenthalten. Auch für sie eine durchschnittliche Zahl von 35 Verpflegungstagen angenommen, verringert sich die zu Lasten der Gemeinden Dittersbach-Oberwaldenburg gehende Anzahl von Verpflegungstagen auf 22356.

Das Notlazarett hat einen Aufwand von 1033630 M. erfordert; auf den einzelnen Verpflegungstag entfällt demnach ein Betrag von 63,50 M. (Damals stand der Dollar 200—300 M.!) Denselben Satz für die 9828 Verpflegungstage im Kreiskrankenhause und im Knappschaftslazarett mit in Anrechnung gebracht, würden für sie Aufwendungen entstanden sein in Höhe von 624078,00 M. Von den Gesamtkosten in Höhe von 1657708,00 M. würden auf die Gemeinden Dittersbach-Oberwaldenburg mit ihren 639 Typhusfällen 1420388 M. entfallen.

Tatsächlich sind den beiden Gemeindeverwaltungen Kosten in Höhe von 1051686 M. durch die Epidemie erwachsen. Der Haushalt beider Gemeinden schloß 1921 in Einnahmen und Ausgaben mit 4342000 M. ab; die Epidemie würde also fast $^1/_4$ des Jahresetats beider Gemeinden verschlungen haben. Der Millionenbetrag ist zunächst durch Anleihen aufgebracht worden, deren Verzinsung jährlich 60000 M. erfordert.

Die Gemeinden können solche Lasten nicht tragen. Sie haben sich infolgedessen an die preußische Staatsregierung mit der Bitte um Unterstützung gewandt. Dieses ist ihnen auch bis zur Höhe eines Drittels der Gesamtsumme zugesagt, falls der Kreis seinerseits $^1/_3$ übernimmt. Letzterer ist dazu nicht in der Lage, so daß sich vorderhand auch der preußische Staat zu nichts verpflichtet fühlt.

Die Bemühungen der Gemeinden, die Beträge für den Krankenhausaufenthalt von den Privatpatienten und von den Kassen wieder einzutreiben, sind wenig erfolgreich. Ja, der Versuch hat eine Bewegung der „Epidemiegeschädigten, E. V." ins Leben gerufen, die Ersatzansprüche an die Gemeinden stellen wollen.

Mit dem errechneten Betrage von nahezu $1^1/_2$ Mill. M. zu Lasten der beiden Gemeinden sind aber die wirtschaftlichen Folgen der Epidemie noch nicht erschöpft.

Eine weitere erhebliche Einbuße erlitt die Volkswirtschaft durch die langdauernde Arbeitsunfähigkeit zahlreicher Berufstätiger.

Von den 639 an Typhus erkrankten Personen waren:
294 Berufstätige (darunter 126 Bergarbeiter),
139 berufslose Frauen (hauptsächlich Ehefrauen),
206 Kinder.

Veranschlagt man bei Typhus die durchschnittliche Dauer der Berufsunfähigkeit auf 90 Tage, so würden sich für 294 Berufstätige 26460 Tage der Arbeitsunfähigkeit ergeben. Bei Annahme eines durch-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schnittlichen Tagesarbeitsverdienstes von damals 50 M. würde sich der Lohnausfall auf 1 323 000 M. belaufen.

Nicht erfaßt ist dabei der Schaden, den die Volkswirtschaft durch die Arbeitsunfähigkeit der 146 beruflosen Frauen (meist Ehefrauen) und vor allem durch den Tod von 62 Menschen erlitten hat, von denen nur 11 im Alter von 1—14 und nur 8 im Alter über 50 Jahren standen.

Eine besondere Berücksichtigung bei der wirtschaftlichen Bewertung der Epidemie verdient schließlich noch die Tatsache, daß 126 Bergarbeiter erkrankten. Die Wichtigkeit ihrer Arbeitsleistung im Rahmen des Produktionsprozesses bedarf gerade in der heutigen Zeit der Kohlennot keiner besonderen Begründung.

Nehmen wir auch für diese 126 Bergarbeiter eine durchschnittliche Arbeitsunfähigkeit von je 90 Tagen an, so würde das einen Ausfall von 20 340 Arbeitstagen bedeuten. 1920 betrug im Waldenburger Revier die durchschnittliche tägliche Arbeitsleistung 0,4 t Steinkohle.

Unter diesen Voraussetzungen wäre daher der Ausfall an geförderter Kohle auf 8136 t zu berechnen; das sind etwa 800 Eisenbahnwagen Steinkohle (Wagen zu 10 t) bzw. 20 Güterzüge zu 40 Wagen.

So tiefgehend die Auswirkungen dieser Typhusepidemie, besonders auch in wirtschaftlicher Beziehung, gewesen, noch viel unheilvoller hätten in jeder Hinsicht ihre Folgen sein müssen, wenn nicht der Seuchenausbruch sofort erkannt, ursächlich geklärt, die Erkrankten aufs schärfste isoliert, der Infektionsstoff gründlich beseitigt wäre — d. h. wenn nicht die gesetzlich geregelte Seuchenbekämpfung einwandfrei gearbeitet hätte.

Seuchenschutz und Seuchenbekämpfung können in unserer Zeit gesundheitlicher und wirtschaftlicher Not höchstens einen Ausbau, aber keinen Abbau ertragen.

Nachdruck verboten.

Zur Serodiagnostik der Tuberkulose mittels Komplementbindung.

[Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Institut des Hauptgesundheitsamtes der Stadt Berlin.]

Von **Fritz v. Gutfeld** und **Edith Weigert.**

Eine sichere Methode der Serodiagnostik der Tuberkulose in den verschiedenen Stadien ihres Ablaufs zu finden, ist das Bestreben vieler Forscher gewesen. Während die früher beschriebenen Methoden den Nachprüfungen nur ungenügend oder gar nicht stand zu halten vermocht hatten, scheint die von Besredka angegebene Form der Komplementbindung sich besser bewährt zu haben. Wir hielten deshalb eine eingehende Durchprüfung seiner Methode für wünschenswert.

1913 hat Besredka zusammen mit Jupille (1) einen Nährboden (Eierbouillon) angegeben, der nach Beimpfung mit Tuberkelbazillen ein zur Komplementbindung brauchbares Antigen liefert. Im folgenden Jahre berichtete Besredka (2) über gute Erfolge bei Komplementfixationsversuchen mit Eierbouillonkulturen als Antigen. Eine

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vereinfachung des Nährbodens veröffentlichte derselbe Autor (3) im Jahre 1921. Dieser Nährboden enthält nur Eigelb, Alkali und Wasser. Zahlreiche französische Autoren[1]), sowie von deutscher Seite L. Rabinowitsch-Kempner (4) berichten über recht günstige Ergebnisse.

Das Antigen wird hergestellt durch Beimpfung des flüssigen Nährbodens mit Tuberkelbazillen, mehrtägige Bebrütung und Abtötung der Keime. Dieser bebrütete Nährboden zusammen mit den gewachsenen Tuberkelbazillen bildet das Antigen. Es enthält eine unspezifische (Nährbodenbestandteile) und eine spezifische Quote (Tuberkelbazillen und deren Produkte)[2]).

Die bisher vorliegenden Untersuchungen sind zum Teil unter persönlicher Leitung Besredkas, sämtlich aber mit einem von ihm selbst hergestellten Antigen ausgeführt worden, während wir Wert darauf legten, mit selbstbereiteten Antigenen zu arbeiten.

Herstellung des Antigens.

Wir begannen im Herbst 1921 mit unseren Versuchen, die sich naturgemäß zunächst auf die Bereitung des Nährbodens erstreckten. Nach den Angaben von Besredka wird der Nährboden hergestellt durch Klärung einer 5-proz. wässerigen Hühnereigelblösung mittels Alkali. So einfach die Zusammensetzung dieses Nährbodens auch ist, muß auch er insofern als inkonstant angesehen werden, als sein wichtigster Bestandteil, das Hühnereigelb, sicherlich nach Alter des Eies, Ernährung der Tiere, Jahreszeit usw. eine verschiedene chemische Zusammensetzung aufweist. Auch der Alkaliverbrauch, der zur möglichst vollkommenen Klärung der Eigelblösung benötigt wird, ist von der chemischen Zusammensetzung des verwendeten Eigelbs abhängig.

Bei der Herstellung unserer Nährböden gingen wir folgendermaßen vor: 2—6 Hühnereier werden mit Wasser und einer Bürste gründlich gereinigt (eine Desinfektion ist nicht erforderlich), aufgeschlagen, die Menge des Eidotters gemessen und hierzu das neunfache Volumen Aqua dest. zugefügt. In unseren ersten Versuchen benutzten wir zur Klärung Sodalösung; wir glaubten aber später, besser Natronlauge verwenden zu sollen, da bei dem nachfolgenden Sterilisieren des Nährbodens ein Teil der Kohlensäure ausgetrieben wird, wodurch eine Aenderung der Alkalität und der Durchsichtigkeit der Nährlösung hervorgerufen wird. Die Technik, die sich uns schließlich als brauchbar erwies, gestaltete sich folgendermaßen:

1) Vgl. die Literaturangaben bei Ichok, Ztschr. f. Tbc. Bd. 37. 1922. H. 1.

2) Sehr eigenartig sind die Beobachtungen von Urbain (5) über den antigenen Wert von Tuberkel- und Paratuberkelbazillen sowie einiger anderer Bakterien bei Züchtung auf dem Besredkaschen Eiernährboden. Dieser Autor fand, daß dem Typus humanus die stärkste antigene Wirkung zukommt, dann folgen dicht der Typus bovinus und in weitem Abstande Vogel-, Fisch- und Paratuberkelbazillen. Auffallenderweise haben aber auch Diphtheriebazillen eine ziemlich starke antigene Wirkung in Gegenwart von Tuberkuloseserum, so daß man an der „Spezifität" des Antigens in immunologischem Sinne wohl zweifeln darf. Dafür scheinen auch in gewisser Hinsicht die Befunde von Boquet und Nègre (6) zu sprechen, die in methylalkoholischen Tuberkelbazillenextrakten zwei Substanzen feststellen konnten, nämlich erstens eine Substanz von lipoidem Charakter, die mehreren Bakterien gemeinsam ist und zweitens spezifische Substanzen, die im Verein mit dem vorgenannten Lipoid ein sehr empfindliches Antigen darstellen. Dies Verhalten erinnert an die antigenen Eigenschaften der roten Hammelblutkörperchen, die diese teils mit Meerschweinchenorganen gemeinsam, teils spezifisch allein besitzen, wie wir an anderer Stelle (7) dargelegt haben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zu einer 10-proz. Eigelblösung in Aqua dest. wird tropfenweise so lange Normalnatronlauge zugesetzt, bis eine möglichst vollkommene Klärung erzielt ist. Dann wird tropfenweise mit Normalsalzsäure abgestumpft, solange die Flüssigkeit klar bleibt. Es bildet sich hierbei eine geringe Menge Kochsalz, die in keiner Weise stört. Wir haben bei unseren Versuchen feststellen können, daß man eine bessere Klärung bei geringem Alkaliüberschuß erreicht, wenn man zunächst mehr Alkali als nötig zu sein scheint, zugibt und den Ueberschuß mit Salzsäure abbindet, als wenn man nur die zur Klärung anscheinend nötige Menge Alkali zusetzt. Es dürfte nämlich leichter sein, in einer fast oder ganz klaren Flüssigkeit eine eben beginnende Trübung (wie sie bei Zugabe zu großer Säuremengen eintritt) zu erkennen, als festzustellen, ob die Aufhellung einer fast klaren Flüssigkeit durch Zusatz eines Tropfens einer klaren Flüssigkeit (im vorliegenden Falle Normalnatronlauge) zunimmt. Hat man beim Abstumpfen des Alkaliüberschusses zu viel Salzsäure zugegeben und dadurch eine erneute Trübung hervorgerufen, so kann diese leicht durch Natronlauge wieder aufgehoben werden. Hierdurch wird nur der Kochsalzgehalt der Flüssigkeit erhöht. Die geklärte Nährlösung wird mit destilliertem Wasser aufgefüllt, so daß eine 20-fache Verdünnung der Eidottermenge entsteht. Diese wird durch Glaswolle filtriert; ihre Reaktion ist lackmusneutral. (Die Wasserstoffionenkonzentration, die nur in einigen Fällen nach der Indikatorenmethode von Leonor Michaelis bestimmt wurde, schwankte um $p_H = 6{,}6—7{,}0$). Alsdann wurde die Flüssigkeit zu je etwa 50 ccm in Kölbchen abgefüllt und bei 110° im Autoklaven 20 Min. lang sterilisiert.

Auf diesem Nährboden haben wir verschiedene Tuberkelbazillenstämme[1]) kultiviert. Diejenigen Stämme, die wir von Glyzerinbouillon in unseren Eiernährboden einbrachten, zeigten erst nach mehreren Passagen ein gutes Wachstum. Der von Dr. Boecker (8) überlassene Stamm (Typus humanus), der bereits auf einem hühnereihaltigen Nährboden längere Zeit gezüchtet war, ging auf unserem Nährboden so prompt an und zeigte eine so gute Vermehrungstendenz, daß wir schließlich diesen Stamm allein zur Herstellung des Antigens für die Komplementbindungsreaktion benutzten. Zur Beimpfung der Nährflüssigkeit wurden einige Tropfen aus der gewachsenen Kultur in das Kölbchen mit dem Nährmedium eingetragen und umgeschüttelt. Die Bebrütung fand bei 37° statt; jeden Tag wurde die Flüssigkeit in den Kölbchen durch Schütteln gut gemischt. In Abständen von einigen Tagen wurde der Inhalt der beimpften Kölbchen mikroskopisch geprüft.

Wir konnten beobachten, daß das Wachstum bereits nach wenigen Tagen deutlich war, und daß nach etwa 14 Tagen starke Vermehrung der Bazillen mit Zopfbildung eingetreten war. Prüfung der Kulturen nach etwa 6 Wochen ließ das Vorhandensein reichlicher Bazillenmengen, die einzeln, nicht mehr in Zöpfen, gelagert waren, erkennen.

Nachdem wir festgestellt hatten, daß der benutzte Stamm nach Ablauf der 1. Woche bereits gutes Wachstum zeigte, stellten wir ein Antigen her aus einer Kultur, die 9 Tage im Brutschrank gestanden hatte. Eine noch kürzere Bebrütungszeit, wie sie von französischer Seite vorgezogen wird, erschien uns nicht zweckmäßig, da die mikroskopische Prüfung nach 4 Tagen nur geringe bis mäßige Vermehrung der Bazillen zeigte. Wir haben im Gegenteil ein weiteres Antigen hergestellt aus einer Kultur desselben Stammes nach 32 Tage langer Bebrütung. Nach mikroskopischer Feststellung ihrer Reinheit wurden die Kulturen durch 20 Min. langes Erhitzen im Autoklaven bei 110° abgetötet und mehrere Std. mit Glasperlen geschüttelt. Das nunmehr fertiggestellte Antigen wurde teils in Flaschen abgefüllt, teils in Ampullen eingeschmolzen und im Eisschrank aufbewahrt.

1) Für die liebenswürdige Ueberlassung der Stämme sprechen wir auch an dieser Stelle den Herren Prof. Heymann vom Hygienischen Institut und Dr. Boecker vom Institut Robert Koch unseren verbindlichten Dank aus.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Antigen stellt eine gelbliche, opalisierende Flüssigkeit dar, die in dünner Schicht nur wenig getrübt erscheint. Mikroskopisch findet man (je nach der Dauer der vorausgegangenen Bebrütung) mehr oder weniger zahlreiche einzeln liegende Tuberkelbazillen oder deren Trümmer; der unbeimpfte Nährboden zeigt keine geformten Bestandteile.

In sämtlichen bisher erschienenen Arbeiten über Komplementbindungsversuche mit Besredka-Antigen haben wir eine uns wesentlich erscheinende Kontrolle vermißt.

Das von Besredka angegebene „Antigen" enthält Eigelb, Wasser, Alkali, abgetötete erhitzte Tuberkelbazillen, deren Stoffwechselprodukte, die sich im Verlauf der Bebrütung gebildet haben, sowie die Abbauprodukte des Nährbodens. Da der Dotter Eiweißstoffe und Lipoide enthält, welche antigene Eigenschaften besitzen, so mußte festgestellt werden, welche Wirkung der Besredka-Nährboden ohne die spezifische Komponente (Tuberkelbazillen und deren Stoffwechselprodukte) ausübt, mit anderen Worten, es mußte die unbeimpfte Nährlösung in gleicher Weise im Komplementbindungsversuch angesetzt werden, wie das Antigen. Auch so ist vielleicht noch keine völlig einwandfreie Kontrolle geschaffen, da der beimpfte Nährboden auch noch wahrscheinlich Nährbodenabbauprodukte enthält, die in der unbeimpften Nährlösung fehlen. Jedenfalls mahnte das Verhalten der Antigene bei der Wassermannschen Reaktion (Extrakte aus normalen Herzen) zum Anstellen dieser Kontrolle.

In unseren Komplementbindungsversuchen haben wir daher mit 3 verschiedenen „Antigenen" gearbeitet.

1) Eiernährboden beimpft, 32 Tage bebrütet (Antigen I), 2) dasselbe, 9 Tage bebrütet (Antigen II), 3) Eiernährboden unbeimpft, nach 9-täg. Brutschrankaufenthalt (III).

Unsere Antigene haben wir Ende Juni vorigen Jahres fertiggestellt und von da an im Eisschrank aufbewahrt. Diese Art der Konservierung war notwendig, da wir unsere Antigene nicht mit Desinfektionsmitteln versetzen wollten, um nicht einen in seiner Wirkung in dieser Kombination unbekannten Faktor einzuführen [1]).

Am zweckmäßigsten erwies sich uns die Aufbewahrung in zugeschmolzenen Ampullen, deren Größe so bemessen ist, daß ihr Inhalt in möglichst kurzer Zeit aufgebraucht wird. Es ist einleuchtend, daß schon die geringste bakterielle Verunreinigung, mit Luftkeimen z. B., ein Unbrauchbarwerden der Antigenlösung herbeiführen kann, da diese ja einen ausgezeichneten Nährboden darstellt; es ist deshalb die Entnahme des Antigens aus den Vorratsfläschchen unter peinlich sterilen Maßnahmen vorzunehmen.

Komplementbindungsversuche.

Bei unseren ersten Versuchen handelte es sich darum, eine brauchbare Technik auszuarbeiten. Die genaue Innehaltung der von den französischen Autoren angegebenen Technik erwies sich uns als nicht zweckmäßig. Abgesehen davon, daß es uns aus theoretischen Gründen nicht angängig erschien, das Antigen in der konstanten, vorher nicht austitrierten Dosis von 0,3 ccm zu benutzen, hätten wir auf diese Weise für jedes Serum bei Verwendung unserer 3 Antigene 15 Röhr-

1) Die Angabe in der Arbeit von Rabinowitsch, daß sich das von Besredka ihr überlassene Antigen sehr lange halte, gibt Anlaß zu der Vermutung, daß Besredka seinem Antigen Konservierungsmittel zusetzt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

chen [Fried (9)] bis 24 Röhrchen (Bass (10)] außer den Serumkontrollen, also 4—6,5 ccm Serum, notwendig gehabt. Eine Vereinfachung zur Verminderung der benötigten Serummengen erschien uns deshalb wünschenswert [1]). Es sei gleich hier bemerkt, daß wir, ebenfalls abweichend von den französischen Angaben, das Komplement 1:10 verdünnt haben, da die Verdünnung 1:15 sich als zu schwach zeigte. Nach zahlreichen Vorarbeiten erwies sich uns schließlich die nachstehend beschriebene Technik, die wir bei den weiter unten zu besprechenden ca. 200 Seren gleichbleibend anwandten, als geeignet.

An jedem Versuchstage wurden 2 Vorversuche vor dem Hauptversuch angesetzt. Im 1. Vorversuch (A) wurde die Eigenhemmung der Antigene bei gleichbleibender Komplementmenge ermittelt. Fallende Mengen der 3 Antigene (I, II, III s. oben) wurden mit je 0,3 ccm 10 proz. frischen Meerschweinchenkomplements vermengt und das Gemisch nach Auffüllung auf 1 ccm mit Kochsalzlösung 25 Min. im Wasserbade bei 37° belassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurde je 1 ccm sensibilisierten Hammelblutes zugegeben (gleiche Mengen 5-proz. Hammelblutes mit der 4-fach lösenden Ambozeptordosis gemischt). Nach $^1/_2$-stünd. Aufenthalt im Wasserbade bei 37° erfolgte die Ablesung. Die höchste Antigenmenge, welche in dem beschriebenen Vorversuche noch komplette Lösung des Hammelblutes zuließ, wurde als konstante Antigendosis für die nun folgende Komplementtitrierung und den Hauptversuch gewählt.

In dem 2. Vorversuch (B) wurden die ermittelten Antigenmengen mit verschiedenen Komplementdosen (meistens 0,2; 0,3; 0,4) versetzt, mit NaCl-Lösung auf 1 ccm aufgefüllt und zur Bindung 25 Min. ins Wasserbad gestellt, dann wurde, wie oben, sensibilisiertes Hammelblut zugesetzt (Gesamtvolumen in jedem Röhrchen 2,0 ccm) und nach Ablauf einer weiteren $^1/_2$ Std. der Hämolysegrad abgelesen.

Meist erhielten wir bei der gegenüber dem 1. Vorversuch verminderten Komplementmenge (0,2 ccm) eine mehr oder weniger starke Hemmung, deren Ausfall für die Wahl der im Hauptversuch zu benutzenden Komplementmenge bestimmend war. Hatten wir bei 0,2 ccm Komplement eine nur geringe, eben angedeutete Hemmung der Hämolyse, so benutzten wir trotzdem diese Komplementmenge im Hauptversuch; fanden wir in dem betreffenden Röhrchen starke oder gar komplette Hemmung, so erhöhten wir im Hauptversuch die Komplementdosis.

Die beiden beschriebenen Vorversuche erwiesen sich als notwendig, da wir feststellen konnten, daß die Eigenhemmung des Antigens im Laufe der Zeit sich ändert. Da wir diese Veränderung auch an den in Ampullen steril eingeschmolzenen, im Eisschrank aufbewahrten Proben beobachtet haben, kommen hierfür nicht etwa bakterielle Verunreinigungen, sondern wahrscheinlich Umsetzungen autolytischer Art als Ursache in Frage.

Diese Beobachtung läßt es auch aus praktischen Gründen als nicht angängig erscheinen, mit einer konstanten, überhaupt nicht austitrierten Antigenmenge zu arbeiten, wie es von anderen Autoren bisher gemacht wurde.

Hauptversuch.

Im Hauptversuch wurde jedes zu prüfende Serum mit den beiden verschieden lange nach der Beimpfung bebrüteten Nährlösungen (Antigen I und II) sowie mit der unbeimpften, aber bebrüteten Nährlösung (III) unter Benutzung von drei verschiedenen Komplementdosen angesetzt. Weitere Röhrchen ohne Antigen dienten als Serumkontrollen.

11 Röhrchen (Nr. 1—11) erhalten je 0,2 ccm des zu untersuchenden Serums. Nr. 1—3 werden mit der aus dem Vorversuch A ermittelten Gebrauchsdosis des Antigens I beschickt, Nr. 4—6 ebenso mit der entsprechenden Dosis des Antigens II, Nr. 7—9 ebenso mit unbeimpftem Nährboden, Nr. 10 und 11 sind Serumkontrollen.

1) Das Arbeiten mit verminderten Dosen spart allerdings Serum usw.; die Abmessung sehr kleiner Mengen mit den gebräuchlichen Pipetten ist aber langwierig oder ungenau.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Röhrchen 1, 4, 7 und 10 erhalten die niedrigste, aus dem Vorversuch B ermittelte Komplementdosis, die Röhrchen 2, 5, 8, 11 die nächst höhere, die Röhrchen 3, 6, 9 endlich eine noch höhere Komplementdosis. Es hat sich in unseren Versuchen gezeigt, daß die doppelte Serumkontrolle mit den beiden niedrigsten Komplementdosen genügt. Die Röhrchen 1—11 wurden sodann mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1 ccm aufgefüllt und ins Wasserbad (37°) gestellt. Nach 25 Min. langem Aufenthalt der Versuchsröhrchen im Wasserbade erfolgte der Zusatz (je 1 ccm) des sensibilisierten Hammelblutes, nach weiterem etwa $^1/_2$-stünd. Wasserbadaufenthalt (nach dieser Zeit pflegen die Kontrollen gelöst zu sein) wurde abgelesen.

Bei der Beurteilung des Ausfalles der Reaktion sind verschiedene Punkte zu berücksichtigen: 1) Wenn die im Vorversuch A ermittelte Antigengebrauchsdosis verhältnismäßig hoch ist, so erhält man auch in denjenigen Röhrchen, in denen das Hammelblut komplett gelöst ist, keine vollkommen klare rote Flüssigkeit, sondern eine mehr oder weniger starke Opaleszenz. Um schnell feststellen zu können, ob die unvollkommene Durchsichtigkeit der Flüssigkeit eine Folge der Anwesenheit des Antigens ist, oder auf unvollkommener Lösung des Hammelbluts beruht, empfiehlt es sich, ein Vergleichsröhrchen herzustellen, welches im Volumen von 2 ccm 0,5-proz. mittels Aqua dest. gelöstes Hammelblut, sowie die Gebrauchsdosis des betreffenden Antigens enthält [1]).

2) Es ist notwendig, bei jedem Serum die Röhrchen, welche die gleiche Komplementmenge erhalten haben, miteinander zu vergleichen und danach den Ausfall der Reaktion zu bewerten. Die Ablesung bereitet keinerlei Schwierigkeiten, wenn in sämtlichen 11 Röhrchen komplette Hämolyse eingetreten ist; in diesem Falle ist die Reaktion glatt negativ. Sind die letzten 5 Röhrchen (s. Schema Tab. I) gelöst, die anderen Röhrchen gehemmt, so ist die Reaktion stark positiv. Zwischenstufen zwischen diesen beiden Extremen, bei denen nur ein mäßiger Grad von Hämolysehemmung abgelesen wurde, wurden als zweifelhaft oder verdächtig bezeichnet. Eine in den Serumkontrollen auftretende Hemmung bezeichnen wir im folgenden, wie üblich, als Eigenhemmung. Das Ausbleiben der Hämolyse in den Röhrchen 7—9, welche als Antigen den unbeimpften Nährboden enthalten, wird im folgenden als „Nährbodenhemmung" protokolliert.

Die von uns untersuchten Sera erhielten wir nur mit dem Namen bezeichnet ohne Angabe der klinischen Diagnose. Erst nachdem wir die Reaktion angesetzt und abgelesen hatten, erfuhren wir an einem der nächsten Tage den klinischen Befund [2]).

Zur besseren Uebersicht lassen wir die Art der Bewertung des Reaktionsausfalls in schematischer Form folgen:

Tabelle I.

Serum Nr.	Röhrchen Nr.											Bewertung
	Antigen I			Antigen II			Antigen III			Serumkontrollen		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	negativ
2	++++	++++	++++	++++	+++	++	—	—	—	—	—	positiv
3	+++	++	+	++	(±)	—	—	—	—	—	—	verdächtig
4	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	Eigenhemmung
5	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	—	—	Nährbodenhemmung

++++ = komplette Hemmung; +++ = fast komplette Hemmung; ++ = mäßige Hemmung; + = geringe Hemmung; — = komplette Lösung.

1) Ebenso sicher ist es, die Röhrchen mehrere Stunden ruhig stehen zu lassen, um feststellen zu können, ob sich ein aus Hammelblutkörperchen bestehender Bodensatz bildet oder nicht.

2) Auch an dieser Stelle möchten wir den Herren Geheimrat Brandenburg, Prof. Wechselmann (R. V. K.), Prof. Müller (Waisenhaus Rummelsburg), sowie Herrn Oberarzt Dr. Eisner (Krankenh. Südufer), für die liebenswürdige Ueberlassung der Sera und der klinischen Angaben unseren Dank aussprechen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In dieser Weise haben wir 208 Patientensera untersucht, von denen wir nachträglich klinische Angaben erhalten konnten. Die außerdem von uns untersuchten Sera, über deren klinische Diagnosen wir nichts ermitteln konnten, haben wir in der nachfolgenden Zusammenstellung fortgelassen. Wenn wir die klinischen Diagnosen einteilen in positiv, negativ und verdächtig und für den Ausfall der serologischen Reaktion die angegebenen Bezeichnungen: positiv, negativ, verdächtig, Eigenhemmung und Nährbodenhemmung einsetzen, so ergeben sich 15 Möglichkeiten bei der Vergleichung des klinischen mit dem serologischen Befunde. Wie unsere Untersuchungen gezeigt haben, sind zwei der möglichen Fälle in der Praxis nicht eingetreten; im übrigen sind unsere Resultate wie folgt:

Tabelle II.

	Klinisch positiv Serologisch					Klinisch negativ Serologisch					Klinisch verdächtig Serologisch					
	+	—	?	E.	N.	+	—	?	E.	N.	+	—	?	E.	N.	
Zahl der Fälle	43	6	11	6	5	7	97	14	8	5	2	1	3	0	0	Summe 208
	60					118					6					
	71					131					6					

Zeichenerklärung: + = positiv; — = negativ; ? = verdächtig; E. = Eigenhemmung; N. = Nährbodenhemmung.

Es kamen also zur Untersuchung:

71 Sera von sicher Tuberkulösen, 6 Sera von Tuberkuloseverdächtigen, 131 Sera von sicher tuberkulosefreien Individuen.

Die Nichttuberkulösen waren teils völlig Gesunde, teils Patienten, die an Arteriosklerose, Herzmuskelerkrankungen, Grippe, Asthma, Anämie, Furunkulose, Nephritis, Ikterus, Tabes litten.

Unter den 208 Seren befanden sich 26 von Luetikern stammende, und zwar:

1mal latente Lues mit Spitzenkatarrh, 1mal latente Lues mit Tuberkuloseverdacht, 24mal Lues ohne Tuberkulose.

Die Ergebnisse der Besredka-Reaktion waren, wie folgt:

A. 70 klinisch sichere Tuberkulosen (ohne Lues) gaben:
positive oder verdächtige Reaktion (43 + 10) 53 = ca. 76 Proz.
negative Reaktion 6 = „ 8 „
Eigenhemmung oder Nährbodenhemmung 11 = „ 16 „
Nach Tuberkulosestadien geordnet ergaben die 59 diagnostizierbaren Fälle:

Stadium der Erkrankung	positiv	verdächtig	negativ	Summe
Spitzenkatarrh, Tb. I, geschlossene Tb.	2	1	4	7
Tb. I—II und Tb. II	14	2	0	16
Tb. II—III und Tb. III	11	4	0	15
Lungentuberkulose ohne Angabe des Stadiums	15	2	0	17
Knochen-, Gelenk- und Drüsentuberkulose	1	1	2	4
Summe	43	10	6	59

B. Von den 6 tuberkuloseverdächtigen Seren werden zunächst nur die 5 luesfreien betrachtet:
Reaktion verdächtig (übereinstimmend mit dem klinischen Befund) 3mal
„ negativ 2mal.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

C. Ziehen wir von den 131 tuberkulosefreien Seren 24 Luessera ab, so reagierten:

negativ	84 =	ca. 79 Proz.
positiv oder verdächtig	11 =	„ 10 „
Eigenhemmung oder Nährbodenhemmung	12 =	„ 11 „

D. Die 26 von Luetikern stammenden Sera gaben mit den Tuberkuloseantigenen folgenden Reaktionsausfall:

a) 1mal Spitzenkatarrh + Lues latens reagierte verdächtig,

b) 1 „ Verdacht auf Spitzenkatarrh + Lues latens reagierte positiv,

c) von den restlichen 24 tuberkulosefreien, luetischen Personen reagierte das Serum: positiv 4, verdächtig 6, negativ 13, Eigenhemmung 0, Nährbodenhemmung 1.

Es ist hierbei wesentlich, den Ausfall der Wassermannschen Reaktion mit in Betracht zu ziehen. Danach waren:

Wassermann-positiv				Wassermann-negativ		
Besredka-Reaktion				Besredka-Reaktion		
+	?	—	Nährbodenhemmung	+	?	—
4	4	8	1	0	2	5
17				7		

Von den tuberkulosefreien, wassermannpositiven Seren[1]) gaben also fast die Hälfte eine positive oder verdächtige Tuberkulosereaktion. Daß eine positive Reaktion bei vorhandener Syphilis und positiver Wassermannscher Reaktion vorkommen kann, ist bereits früher beobachtet worden. Vielleicht spielt der Lipoidgehalt des Besredka-Antigens hier eine ursächliche Rolle. Es dürfte sich daher jedenfalls empfehlen, im praktischen Fall neben der Besredka-Reaktion die Wassermannsche Reaktion anzustellen und bei deren positivem Ausfall die Diagnose Tuberkulose nur mit Vorbehalt abzugeben.

Fragen wir nun nach dem Wert der Besredka-Reaktion, so können wir aus der Tabelle II folgendes entnehmen:

Von 208 untersuchten Seren ergaben:

Völlige Uebereinstimmung der serologischen Reaktion mit dem klinischen Befund 143, qualitative Differenz 28, völlige Differenz 13, kein verwertbares Resultat wegen Eigenhemmung oder Nährbodenhemmung 24. In Summa 208.

Wir haben also 184 verwertbare Resultate, davon völlige Uebereinstimmung 143mal = ca. 78 Proz., qualitative Differenz 28mal = ca. 15 Proz., völlige Differenz 13mal = ca. 7 Proz.

Einen Einfluß des Alters oder des Geschlechts auf den Ausfall der Reaktion haben wir nicht feststellen können. Die Patienten, von denen unsere Sera stammten, gehörten allen Altersstufen vom Säugling bis zu 77 Jahren an.

Unterziehen wir die Fälle mit völliger Differenz sowie die wegen Eigenhemmung und Nährbodenhemmung nicht verwertbaren Fälle einer genaueren Durchsicht, so finden wir folgendes:

1) Völlige Differenz.

6 sichere Tuberkulosen reagierten negativ, 7 tuberkulosefreie Fälle reagierten positiv.

Unter den Tuberkulosen befanden sich 4 Anfangsstadien und 2 Knochen-Gelenkfälle.

Von den 7 tuberkulosefreien Fällen litten 4 an Lues, 1 an Ikterus, 2 an akutem Gelenkrheumatismus.

1) Unsere 7 Wassermann-negativen Sera stammten von behandelten Luetikern.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Eigenhemmung und Nährbodenhemmung.

Daß Sera, welche Eigenhemmung aufweisen, sich der serologischen Diagnose entziehen, ist bekannt und bedarf keiner weiteren Erörterung. Wir konnten dies Verhalten 14mal bei unseren Untersuchungen feststellen. Wesentlich erscheint aber die Besprechung der 10 Fälle, die mit der von uns eingeführten Kontrolle „Nährbodenhemmung" ergaben und dazu beitragen, den Wert dieser Kontrolle zu beleuchten. In diesen 10 Fällen bekamen wir sowohl mit den beiden beimpften Antigenen als auch mit dem unbeimpften Nährboden Hemmungen, während die Serumkontrollen komplette Hämolyse zeigten. Ohne die Nährbodenkontrolle hätten wir 10 positive Fälle mehr zu verzeichnen gehabt. Unter diesen befanden sich 5 Tuberkulosen, die infolgedessen dem serologischen Nachweis entgangen sind, andererseits aber auch 5 Fälle, ohne irgendwelche Zeichen von Tuberkulose (Arthritis deformans, Blutarmut, Aorteninsuffizienz, chronische Bronchitis, Lues), die also zu Fehlresultaten geführt hätten.

Wir glauben, daß eine Einschränkung der Reaktionsbreite zugunsten der Spezifität auch dann zu erstreben ist, wenn selbst dadurch einige positive Fälle sich der Diagnose entziehen.

Zusammenfassung.

1) In Uebereinstimmung mit den Angaben von Besredka wurde festgestellt, daß der aus Eidotter, Alkali und Wasser zusammengesetzte Nährboden zur Züchtung von Tuberkelbazillen gut geeignet ist.

2) Mit einem Stamm vom Typus humanus selbst hergestellte Antigene erwiesen sich für die Anstellung der Komplementbindungsreaktion als brauchbar.

3) Der Antigenwert muß an jedem Versuchstage ermittelt werden, ebenso die zu verwendenden Komplementdosen.

4) Eine Kontrolle mit unbeimpftem Nährboden an Stelle des Antigens ist zur Ausschaltung unspezifischer Reaktionen erforderlich.

5) Völlige Uebereinstimmung mit dem klinischen Befunde ergab sich in ca. 78 Proz., völlige Differenz in ca. 7 Proz. der Fälle. Frühstadien der Tuberkulose reagieren relativ häufig negativ. Dadurch wird die praktisch-diagnostische Bedeutung der Reaktion eingeschränkt.

6) Sera von Luetikern mit positiver Wassermann-Reaktion geben häufig, auch bei Fehlen von Tuberkulose, eine mehr oder weniger stark positive Reaktion.

Literatur.

1) Besredka u. Jupille, Ann. Pasteur. 1913. — 2) Besredka, Ztschr. f. Imm. Orig. Bd. 21. — 3) Ders., Ann. Pasteur. 1921. — 4) Rabinowitsch-Kempner, Dtsch. med. Wochenschr. 1922 Nr. 12. — 5) Urbain, Compt. rend. Soc. de Biol. T. 86. Nr. 6. — 6) Boquet et Nègre, Ibid. T. 86. Nr. 13. — 7) v. Gutfeld, Ztschr. f. Imm. Orig. Bd. 34. — 8) Boecker, Ztschr. f. Hyg. Bd. 95. — 9) Fried, Compt. rend. Soc. de Biol. T. 83. Nr. 29. — 10) Bass, Ibid. T. 83. Nr. 28.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Eine Wurstvergiftungsepidemie durch Bact. enteritidis Gärtner, zum Teil mit Botulismus-ähnlichen Erscheinungen.

[Aus dem Marinelazarett Kiel-Wik.]

Von Dr. **Heinrich Ruge**, Mar.-Ob.-Ass.-Arzt.

Mit 1 Kurve im Text.

Am 24., 25. und 26. Juli 1921 erkrankte ein großer Teil der Besatzung mehrerer in Kiel anwesender Torpedoboote an akuten Vergiftungserscheinungen, hauptsächlich in Form einer akuten Gastroenteritis, welche auf verdorbene Nahrungsmittel hinwies. Da seit dem 20. Juli auch unter der Zivilbevölkerung etwa 3—400 Personen an denselben Erscheinungen erkrankt waren, lag der Verdacht einer gleichen Ursache nahe. Als solche wurde eine sogenannte Teewurst, die, in einer Wurstfabrik Kiels hergestellt, an die verschiedensten Feinkostgeschäfte vertrieben und auch an die verschiedensten Torpedoboote geliefert war, festgestellt. In den Wurstproben wurden im Hygienischen Institut und ebenso auch in der Bakteriologischen Untersuchungsstelle des Lazaretts Kiel-Wik Bact. enteritidis Gärtner gefunden.

Wodureh die Bazillen in die Wurst hineingekommen sind, hat nicht völlig ermittelt werden können.

Meines Erachtens kommen 5 Möglichkeiten in Betracht: 1) Das Fleisch stammt von einem kranken Tier (Notschlachtung), ist also höchstens bedingt tauglich oder sogar überhaupt nicht für den Verbrauch tauglich gewesen. — 2) Das Tier hat eine Infektion mit Gä-Bazillen durchgemacht und ist seit der Zeit Gä-Bazillenausscheider bzw. -träger. — 3) Die Gä-Bazillen haben sich in dem Darm des Tieres als Saprophyten aufgehalten. — 4) Das Fleisch ist von Ratten, die ja sehr häufig Gä.-Bazillenträger sind, durch Kot und Urinausscheidungen verunreinigt worden. — 5) Unter dem Personal hat sich ein Gä-Bazillenträger befunden [1]).

Am wahrscheinlichsten ist die 1. Lesart, allerdings konnte dem Fleischer direkt Belastendes nicht nachgewiesen werden, aber der Verdacht war insofern sehr begründet, als 1) seine Schlachtbücher sehr mangelhaft geführt waren, es war auch nicht zu ersehen, woher er das fragliche Fleisch bezogen hatte, und er sich 2) anderer Vergehen schuldig gemacht hatte. Doch über die Einzelheiten dieser ganzen Epidemie wird der Kreisarzt, Herr Dr. Engelsmann, in der Vjschr. f. Gesundheitspflege ausführlich Bericht erstatten, dem ich an dieser Stelle für seine bereitwilligen Angaben meinen verbindlichsten Dank aussprechen möchte. Ich habe nur die Absicht, im folgenden kurz die klinischen und bakteriologischen Befunde bei den Marinemannschaften zu besprechen.

1) Ein Bazillenträger hat sich unter dem Personal nicht nachweisen lassen.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-16 14:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es haben die Wurst an dem einen Abend genossen 127 Mann = 100 Proz. Nicht erkrankt sind 3 = 2,4 Proz., erkrankt sind 124 = 97,6 Proz.; davon schwer 56 = 44 Proz., mittelschwer 45 = 35,5 Proz., leicht 23 = 18,1 Proz. Gestorben ist keiner = 0 Proz.

Von diesen 124 Mann wurden 53 ins Lazarett überführt, da die Erscheinungen zum Teil zunächst ziemlich bedenklich aussahen. Es kamen auch leichtere Fälle ins Lazarett, so daß hier eigentlich alle Stadien der Vergiftung beobachtet werden konnten.

Im einzelnen verliefen die leichteren Erkrankungen (23) etwa folgendermaßen: 12—18 Std. nach Genuß der Wurst, es waren auf den Mann etwa 60 g Wurst verausgabt worden, trat leichter Durchfall auf, dazu gesellten sich etwas Kopf- und Gliederschmerzen und für 1 Tag Fieber von etwa 38°. Am nächsten Tage waren diese Kranken meist alle entfiebert. Ebenso ließen auch Durchfall und Kopfschmerzen innerhalb von 48 Std. nach. Die Behandlung bestand zunächst in Verabreichung von Rizinus bzw. Kalomel, Diät, Wärmflasche und Bettruhe. Sie wurden danach noch einige Tage unter Beobachtung und Diät gehalten und dann als dienstfähig entlassen. Die Behandlungsdauer dieser leichter Erkrankten betrug im Durchschnitt etwa 2—3 Tage. Keine Roseolen, kein Milztumor.

Die schwereren Erkrankungen lassen sich in 3 Formen einteilen. 1) Die gastroenteritische, 2) die febrile, 3) die zerebrale Form.

Die meisten Leute der 1. Gruppe (38) erkrankten nach einem Durchschnittsintervall von 12—18 Std. Zunächst nur ganz leicht an Kopfschmerzen und Uebelkeit, um nach weiteren 18 Std., d. h. also 36 Std. nach Genuß der Wurst, von einem akuten Verschlimmerungsschub erfaßt zu werden. Dieser ging mit hohem Fieber, reichlichen schleimigen, aber blutfreien Durchfällen und starker Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens, Kopf- und Gliederschmerzen und allgemeiner Mattigkeit einher. Das Gesicht war leicht gedunsen und die Leute machten alle einen apathischen Eindruck. — Objektiv war außer einer geringen Druckempfindlichkeit der Ileocökalgegend nichts Krankhaftes nachzuweisen. Auch hier schwanden die bedrohlichen Erscheinungen sehr bald, ebenso das Fieber. Die Behandlung war auch hier die bereits angegebene.

Die 2. Gruppe umfaßt 6 Leute, welche nach 12—18 Std. unter geringen Kopfschmerzen, und nach weiteren 12 Std. unter hohem Fieber und starken Kopf- und Gliederschmerzen erkrankt waren, jedoch niemals Erbrechen oder Durchfälle gehabt hatten; es war im Gegenteil bei einigen noch eine leichte Verstopfung zu beobachten.

In die 3. Gruppe gehören 9 Leute; bei diesen kamen stärkere zerebrale Erscheinungen zur Beobachtung, die bereits nach 6—10 Std. einsetzten. 4 dieser Fälle boten bei sehr hohem Fieber ausschließlich ausgeprägte Somnolenz (d. h. keine Reaktion auf Anruf und leichtere Berührungen, schwache Abwehraktion bei Reizen wie Stechen und Kneifen). 3 weitere Fälle zeigten bei hohem Fieber Delirien in Form von unverständlich gesprochenen Worten und Sätzen und einer gewissen Unruhe, die sich durch Herumwerfen in der Hängematte, Stöhnen und Seufzen kundgab. Dazu trat zeitweilig bei 2 Pat. Zucken und Zittern fast der gesamten Körpermuskulatur auf. — Bei den restlichen 2 Fällen kam es endlich zu ausgesprochenen Erregungszuständen. Die Pat. waren beide nicht in der Hängematte zu halten, sprangen wiederholt heraus, schleuderten Kameraden zur Seite und gingen sogar aggressiv auf diese los. In ruhigeren Momenten erzählte der eine Patient, ein kleiner, schwächlicher Heizer, lange Geschichten von einer Autofahrt, einer Karussellfahrt und plauderte teils unter Lachen, teils mit weinerlicher Stimme allerlei Geheimnisse von seinem Mädchen aus; dabei waren die Extremitäten in steter Bewegung. Auf Zwischenrufe schien er zu reagieren, seine Antworten aber liefen allermeist in einer ganz anderen Gedankenrichtung als die der Frage. Ueberhaupt fiel ein schnelles Wechseln des Gedankeninhalts auf. Nach Lazarettaufnahme bekam Pat. starke Ptosis links mit ödematöser Schwellung der Umgebung des Auges; ferner einen starken Herpes labialis.

Der andere Pat. beschränkte sich in seinen Aeußerungen mehr auf eine Richtung, und zwar erstens auf die der Verteidigung gegen irgendwelche erscheinenden Drohungen, und zweitens auf die Angst um seinen vor wenigen Tagen verstauchten Daumen. Er war der erheblich schwerer zu Bewältigende, da er durch die Versuche, ihn in die Transporthängematte zu verstauen, anscheinend zu stärkerem Toben und größerer Abwehr gereizt wurde. Wenn er am Boden lag, fiel es auf, daß er — mit geschlossenen Augen — ständig den Kopf nach hinten auf den Boden schlagen ließ, so daß nur mit großer Mühe eine schwere Beschädigung abgewandt werden konnte. Pupillenreaktion konnte wegen des Tobens nicht recht beobachtet werden. Bei diesem Pat. ist noch bemerkenswert, daß er nie Erbrechen und Durchfälle gehabt hat, sondern daß die Erkrankung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit einem Ohnmachtsanfall begann, von dem er sich zuerst erholte; er sah danach äußerst schlecht aus, bis dann, ca. $^1/_2$ Std. später, fast unvermittelt der Erregungszustand einsetzte; auch nachher sind die Durchfälle aufgetreten.

Die Dauer der Erregungszustände und Delirien belief sich auf etwa 4—8 Std., die der Somnolenz betrug etwa 12—16 Std.

Ferner trat noch bei 2 Leuten ein stundenlanger Singultus auf; der erst durch Mo.-Injektion etwas abgedämpft werden konnte. Weiterhin kam auch ein leichter, ziemlich rasch vorübergehender Kollaps bei dem einen dieser beiden vor. Alle Pat. zeigten ebenfalls ein müdes, schlaffes Aussehen und hatten eine belegte Zunge und Foetor ex ore.

Auch hier klangen die Erscheinungen ziemlich schnell ab, so daß die Leute nach spätestens 7 Tagen entlassen werden konnten.

An dem einen Fall, bei dem etwa 36 Std. nach dem Erregungszustand die Ptosis auftrat, ist noch folgendes auffällig: Es hat nämlich den Anschein, als ob das Gift auf das Gehirn ziemlich nachhaltig gewirkt und in gewissem Sinne einen Locus minoris resistentiae für eine Zeitlang geschaffen hat. Ich lasse den Bericht des Schiffsarztes Ob.-Ass.-Arzt Dr. Timpe, hierüber folgen:

Er reagierte auf ein kürzlich — also knapp 3 Wochen nach der Vergiftung — erlittenes, verhältnismäßig geringes Trauma sehr stark. Unfall und Folgen waren — teilweise nach Aussagen von Augenzeugen — folgende: Pat. wurde beim Kohlen von einem Paket schwebender, gefüllter Kohlensäcke getroffen an Kopf und Oberkörper, aber nur so leicht, daß er weder weggeschleudert wurde noch zu Boden fiel. Er begab sich ohne jede Hilfe aufs Achterdeck, schlug dort plötzlich die Hände vors Gesicht und jammerte: „mein Kopf, mein Kopf!“ Die Knie sollen etwas gezittert haben, Pat. fiel aber auch jetzt nicht um, sondern mußte erst zum Sitzen genötigt werden. Als ich ihn sah, saß er in gekrümmter Haltung da, beide Hände fest an Kopf und Gesicht gepreßt, der ganze Körper zitterte, manchmal krampfartig, und Pat. war nicht zu bewegen, entweder die Hände fortzunehmen, oder etwas anderes zu sprechen als: „mein Kopf, mein Kopf!“ Kein Erbrechen, keine Lähmung. Pat. hat dann noch stundenlang in beschriebener Haltung in der Hängematte gelegen und gezittert. Am Gesicht und Kopf war keine Verletzung oder Hautabschürfung zu bemerken; es fand sich nur ein geringer Bluterguß unter die Haut über dem Stirnbein; die nächsten 2 Tage erhebliche Besserung; Pat. machte leichten Dienst. Am 3. Tage kletterte Pat. bei einem Ausflug der ganzen Besatzung auf einen Zaun und sprang aus $1^1/_2$ m Höhe herab. Bald darauf setzte ein ganz ähnlicher Zustand ein, wie vorhin geschildert, der stark ca. 3 Std. und leichter ca. 6 Std. anhielt. Nach 2 Tagen Schonung versieht Pat. jetzt schon wieder seit 8 Tagen voll seinen Dienst als Heizer. Die Anamnese des kräftigen, starken Heizers, 20 Jahre, ergibt, ebenso wie die seiner Familie, nicht auf Veranlagung zu Nerven- bzw. Geisteskrankheiten Verdächtiges.

Die höchste Temperatur verteilt sich bei den 53 im Lazarett beobachteten Fällen, wie folgt: über 40° 3; über 39° 15; über 38° 22; über 37° 12; unter 37° 1, zusammen 53.

Daß irgendeine von den aufgeführten Gruppen höheres Fieber als eine andere gehabt hätte, ist nicht beobachtet worden. Die Höchsttemperatur war meist nach 36—48 Std. erreicht und fiel dann ziemlich rasch zur Norm ab. Es kamen natürlich auch Abweichungen vor; ebenso gelangte ein ziemlich schwerer Fall zur Beobachtung, der fast gar kein Fieber hatte.

Ich glaube nicht, daß diese Erregungszustände allein auf die hohe Temperatur zurückzuführen sind. Denn 1) sind es auffällig viel, von 53 Leuten 9, d. h. also 17 Proz., und 2) hat auch eine ganze Anzahl genau so hohes Fieber gehabt, ohne daß derartige zerebrale Erscheinungen aufgetreten wären, ebensowenig ist eine Ptosis beobachtet worden. Diese 9 Fälle erwecken die Vermutung, daß vielleicht der Bac. enteritidis Gärtner manchmal aus noch nicht bekannten Ursachen ein botulinusartig wirkendes Gift zu bilden vermag. Ob es, was ja auch möglich sein kann, an der Wurst selbst gelegen hat, ist nachträglich schwer zu sagen. Jedenfalls machte die Wurst, wenigstens damals, einen äußerlich völlig einwandfreien Eindruck. Außerdem ist die an die Marine gelieferte Wurst verhältnismäßig schnell, d. h. nach 3

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bis 4 Tagen, verbraucht worden, so daß es vorher kaum noch zu stärkeren Eiweißzersetzungen hat kommen können.

Inwiefern die Menge der genossenen Wurst auf die Inkubationszeit und die Heftigkeit der Erscheinungen irgendeinen Einfluß gehabt hat, ist nicht mit Sicherheit zu entscheiden. Allerdings scheint doch ein gewisser Zusammenhang zu bestehen. Denn die Leute, bei denen die zerebralen Erscheinungen im Vordergrunde standen, geben an, nur geringe Mengen, d. h. also etwa 20—30 g, genossen zu haben, während die anderen die doppelte Menge verzehrt haben; bei diesen haben jedoch die stürmischen Erscheinungen erst nach 22—36 Std. eingesetzt. Allerdings erfahren auch die Bewertungen dieser Angaben insofern eine Beschränkung, als 1) ein Mann auch nur etwa 20 g Wurst gegessen hat und überhaupt nicht krank geworden ist, und daß 2) ein anderer, welcher die Portion von 3 Kameraden zu sich genommen hat (etwa 180 g) seiner Behauptung nach nur schnell vorübergehende Kopfschmerzen und einmal dünnen Stuhl gehabt hat.

Man wird wohl für diese Fälle, ebenso wie für die sehr leicht erkrankten, eine gewisse natürliche Immunität gegen die Gärtner-Bazillen annehmen müssen. Denn es ist sonst nicht erklärlich, warum gerade ein paar Leute, welche dieselbe Wurst genossen haben, nicht ebenso schwer wie ihre Kameraden erkrankt sind. Auch Rimpau hat beobachten können, daß Personen Gä-Bazillen enthaltendes Fleisch ohne Schaden zu sich nahmen.

In der Stadt Kiel selbst sind nach den Angaben des Kreisarztes rund 500 Fälle an Wurstvergiftungen vorgekommen. Davon verliefen etwa 50 Proz. schwerer, sie waren aber alle wieder nach 5—6 Tagen abgeklungen. Todesfälle kamen nicht vor. Etwa 8—10 Leute haben angeblich auch Wurst genossen, sind aber nicht erkrankt. Zerebrale Erscheinungen stärkerer Art, außer Kopfschmerzen und Ohnmachten, sind nicht beobachtet worden. Weiterhin ist auffällig, daß die Vergiftungserscheinungen mit der Zeit — im ganzen handelt es sich um 4—6 Tage, an denen die Wurst genossen wurde, schwächer geworden sind. Eine Erklärung hierfür werde ich weiter unten zu geben versuchen.

Soviel ich aus der Literatur ersehe, sind derartig heftige, ausschließlich zerebrale Erscheinungen bei einer Reihe von Personen noch nicht beobachtet worden,

Riemer gibt allerdings an, er habe vereinzelt nervöse Störungen und Halluzinationen beobachtet. Man muß jedoch hier annehmen, daß es sich um Nebenbefunde gehandelt hat, während der akute Magen- und Darmkatarrh im Vordergrunde des Krankheitsbildes stand.

Bemerkenswert ist noch eine Mitteilung von Raether. Hier hatte ein junger, etwas imbeziller Mensch verdorbenes Pferdefleisch zu sich genommen und bot kurz folgendes Krankheitsbild: Körperlich: Fieber und Durchfall, geistig: Verwirrtheit, große Unruhe, Amnesie und einen stuporösen Zustand. Außerdem klagte er über heftige Kopfschmerzen. Dazu trat weiterhin eine einseitige Fazialisparese, eine doppelseitige Ptosis und ein Fehlen der Sehnenreflexe, während die Pupillenreaktion erhalten war. Der Fall ging nach etwa 14 Tagen in Heilung über.

Ich möchte den Fall deshalb als wahrscheinlich durch Gärtner bazillen(toxine) bedingt auffassen, weil der Ty(?) Vidal am 9. Tage „gering positiv (!)“ war. Eine Untersuchung des verdächtigen Fleisches und ebenso der Ausleerungen des Kranken scheint nicht stattgefunden zu haben. — Ob sich hier die Auslösung der Psychose allein auf die verminderte Widerstandsfähigkeit des Gehirns — Riemer meint näm-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lich, daß das Gehirn geistig Minderwertiger viel empfindlicher gegen irgendwelche Schädigungen sei als ein normal gebautes Gehirn — zurückführen läßt, ist zum mindesten zweifelhaft. Ebenso hätten meines Erachtens diese zerebralen Erscheinungen, wenn vielleicht auch nicht so langdauernd, auch bei einem normalen Menschen eintreten können (s. o.). — Welche Fleisch- bzw. Bakteriengifte in dem vorliegenden Fall eine Rolle gespielt haben könnten, wird nicht näher untersucht.

B. Bakteriologischer Teil.

Die bakteriologische Untersuchung des eingesandten Materials, 2 Wurstproben und 1 geöffnete Büchse Cornedbeef, ergab als Befund in der einen Wurstprobe und in dem Cornedbeef den Bac. enteritidis Gärtner in ziemlich erheblicher Menge (auf Bitter-Platten zahlreiche farblose Kolonien).

Um das Vorkommen des Bazillus in dem Cornedbeef zu erklären, möchte ich ein ähnliches Untersuchungsergebnis des Hygienischen Institutes anführen, das mir der Leiter, Prof. Bitter, liebenswürdigerweise mitteilte. Dort konnte er nämlich in einem Fall aus Butter ebenfalls den Bac. enteritidis züchten. Der Befund wurde dadurch erklärlich, daß, wie sich nachträglich noch feststellen ließ, mit ein und demselben Messer zunächst die Wurst und nachher die Butter geschnitten worden war. Es hatte also hier ungewollt eine richtige Ueberimpfung der Bakterien stattgefunden.

Für meinen Fall nehme ich nun etwas Aehnliches an. Denn es ist sehr unwahrscheinlich, daß in dem Cornedbeef die Bakterien bereits vorher gewesen sein sollen, und zwar aus dem Grunde unwahrscheinlich, weil die Mannschaft schon früher Cornedbeef von derselben Lieferung erhalten hatte und niemand an Vergiftungserscheinungen erkrankt war. Außerdem können natürlich noch Fliegen und Ratten als Ueberträger in Betracht kommen.

Aus den Stuhlproben — es wurden im ganzen 42 Proben eingesandt — konnte nur 1mal der Erreger gezüchtet werden. Merkwürdigerweise hatte dieser Mann verhältnismäßig wenig Beschwerden gehabt. Bei weiteren Stuhluntersuchungen desselben Mannes fanden sich jedoch keine Gärtner-Bazillen mehr.

Ein 4. Stamm ließ sich durch Fütterung einer weißen Maus mit einem Stück Cornedbeef gewinnen. Die Maus war zunächst ganz munter, zeigte aber etwa vom 7.—9. Tage ab verminderte Freßlust und Steifigkeit der Glieder und ein struppiges Fell. Sie starb am 13. Tage nach der Fütterung. In Leber und Milzausstrichen fanden sich Reinkulturen des Erregers, ebenso ließen sich aus dem Darminhalt zahlreiche Kolonien aussondern. Daß es sich tatsächlich um Gärtner-Bazillen handelte, bewies 1) ihr kulturelles Verhalten und 2) die Agglutination mit spezifischem Serum.

Im Präparat zeigen sie sich als schlanke, etwa 3—4 μ lange und $^1/_4$—$^1/_2$ μ breite, gramnegative Stäbchen. Sie sind lebhaft eigenbeweglich und verlieren diese Eigenschaft auch nicht nach monatelangem Wachstum auf künstlichem Nährboden (Schrägagar).

Kulturell verhalten sie sich folgendermaßen: Bitter-Chinablauagar wird von ihnen entfärbt. Nach 16-stünd. Aufenthalt im Brutofen zeigen sich stecknadelkopfgroße, durchscheinende Kolonien mit einem entfärbten Hof. Nach weiteren 36—48 Std. Aufenthalt bei Zimmertemp. lassen sich deutliche Wallbildungen erkennen. Diese Eigenschaft weisen jedoch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nur die frisch isolierten Stämme auf, während sie den auf künstlichen Nährböden gezüchteten bald verloren geht.

Gas bilden sie aus folgenden untersuchten Zuckerarten:

Stamm	Zuckerart											Lackmusmolke
	D.	S.	L.	Mlt.	R.	St.	Gl.	Xy.	A.	Rh.	Mt.	
Ty Labor.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	blau, klar
Ty A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	blau, klar
Ty B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Sp. rot, klar
Ty Hyg.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	dgl.
Para A Stol.	++	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	rot, klar
„ „ 6	++	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	dgl.
„ „ 619	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	„
„ „ 620	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	„
Para B 4	++	0	0	++	0	0	0	0	+	+	+	blau, trübe
„ „ 391	++	0	0	+	0	0	0	0	++	++	+++	dgl.
„ „ 1011	+	0	0	+	0	0	0	0	+	+	+++	„
„ „ 4156	+	0	0	+	0	0	0	0	+	+	+++	rot, trübe
„ „ 1399	+	0	0	+	0	0	0	0	+	+	+++	blau, trübe
„ „ Hyg.	+	0	0	+	0	0	0	0	+	+	+++	dgl.
Gärt. 317	++	0	0	++	0	0	0	++	0	0	++	rot, trübe
„ 325	+	0	0	++	0	0	0	++	0	0	++	dgl.
„ 345	++	0	0	++	0	0	0	++	0	0	++	„
„ 367	++	0	0	++	0	0	0	++	0	0	++	„
„ 3253	++	0	0	++	0	0	0	0	0	0	++	blau, trübe
„ 4109	0	0	0	++	0	0	0	0	0	0	++	dgl.
„ W. 21	++	0	0	++	0	0	0	++	0	0	++	„
„ 5321	++	0	0	+	0	0	0	++	0	0	++	„
„ 5338	++	0	0	+	0	0	0	++	0	0	+++	„
„ 5325	0	0	0	++	0	0	0	++	0	0	++	„
Brl. Hammel	+	0	0	++	0	0	0	++	+	+	+++	blau, trübe
„ Makrele	++	0	0	++	0	0	0	++	+	+	++	dgl.
„ Labor.	+	0	0	++	0	0	0	++	+	+	++	„

D. = Dextrose, S. = Saccharose, L. = Laktose, Mlt. = Maltose, R. = Raffinose, St. = Stärke, Gl. = Glyzerin, Xy. = Xylose, A. = Arabinose, Rh. = Rhamnose. Mt. = Mannit, L.M. = Lackmusmolke.

Indolbildung wurde bei keinem Stamm beobachtet, alle Stämme trübten Bouillon.

Differentialdiagnostisches Schema.

Para A	B	Para A	Gä	Para A	Br.	Para B	Gä	Para B	Br.	Gä	Br
	A+ (Mt+)	Rh+	Xy + (Mt+)		Xy+ A+ (Mt+)	Rh+ A+	Xy+		Xy+		Rh+ A+
LM.		LM.		LM.							
	Wall		Wall					Wall		Wall	

Es besteht in den differentialdiagnostischen Befunden zwischen Para B und Gärtner insofern Uebereinstimmung mit Stickdorn (90), als auch hier Gärtner als nichtgasbildend bei Rhamnose und Arabinose befunden wurde.

Eine Mengenbestimmung der Säurebildung nach Wagner (98) ergab infolge mangelhaften Arbeitens der Chinablaulösung keine einwandfreien Resultate.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Ergebnisse wurden nach 96 Std. abgelesen. Auffällig ist hier das Verhalten der Ty- und Gärtner-Stämme 325—367 der Lackmusmolke gegenüber. Die Lackmusmolke der Ty-Stämme wurde leicht rotviolett und blieb auch während der Beobachtungszeit so. Bei den Gärtner-Stämmen trat nach 24 Std. zunächst eine Rötung auf. Danach erfolgte ein Umschlag in Blau für etwa 48 Std. Und zwar ging dieser Farbenwechsel stufenweise vor sich. Rot-rotviolett-violettrot-violettblau-blau konnte man deutlich unterscheiden. Nach weiteren 24 Std. war jedoch ein vollständiger Umschlag in Rot eingetreten. Dieser war endgültig. Bei den anderen Stämmen ist ein ähnliches Verhalten wahrzunehmen, nur mit dem Unterschiede, daß der Wechsel in Blau endgültig ist. Ich habe sämtliche Gärtner-Stämme nach 96-stünd. Aufenthalte bei 37° C nachher noch 6 Mon. bei Zimmertemperatur stehen lassen, natürlich mit den entsprechenden Kontrollen, ohne daß sich eine Farbänderung bemerkbar gemacht hätte. Dabei waren die Stämme 325 bis 367 und W 21—5325 von ein und derselben Epidemie. Die letzten 4 sowie die Stämme 3253 und 4109 verdanke ich Herrn Prof. Bitter, Hyg. Institut Kiel, wofür ich ihm an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aussprechen möchte.

Die zu den weiteren Untersuchungen erforderlichen Immunsera wurden folgendermaßen hergestellt:

Einem 3200 g schweren Kaninchen wurden 6 intravenöse Einspritzungen einer 24-stünd. Schrägagarkultur in folgenden Dosen und Abständen gemacht:
22. Aug. $^1/_2$ Oese, 12. Sept. 1 Oese, 28. Sept. 4 Oesen } in 1 ccm 0,85-proz.
1. Sept. 1 „ 23. „ 2 Oesen, 6. Okt. 4 Oesen } NaCl-Lösung Tit. 100 000

Paratyphus A- und B-Serum wurde ähnlich gewonnen: Titer 20 000 bzw. 50 000 2. Nov. $^1/_{20}$, 10. Nov. $^1/_{10}$, 19. Nov. $^1/_5$, 30. Nov. $^1/_5$ Oese intravenös.

Breslauimmunsera erhielt ich auf diese Weise: 22. Aug. $^1/_2$, 1. Sept. 1, 12. Sept. 2 Oesen intravenös. Titer 50 000.

Von der Herstellung weiterer Sera mußte infolge Tiermangels Abstand genommen werden.

Das Gärtner-Serum wurde aus dem Stamm 367, das Breslauserum aus dem Stamm Labor und die beiden anderen Sera ebenfalls aus alten Laboratoriumsstämmen hergestellt. Alle Stämme hatten, seitdem sie vor etwa 3 Jahren gewonnen waren, keine Tierpassagen durchgemacht; die Ausnahme bildete nur der frisch gewonnene Gärtner-Stamm. Dieser wurde nach einem reichlichen Monat nach der Tierpassage zur Immunisierung verwendet.

Den Kaninchen bekamen die Einspritzungen gut, alle zeigten gutes Aussehen und ebenso war das Gewicht während der Einspritzungen kaum vermindert. Bei der Schlachtnng hatten alle Tiere sogar etwas über das ursprüngliche Gewicht.

Die Agglutination — es kamen 10 Gärtner, 3 Breslau-, 6 Para B-, 4 Para A- und 4 Typhusstämme zur Verwendung — ergab folgendes Bild (s. Tab. S. 150).

Sieht man sich die Tabelle näher an, so fällt es auf, daß die Gä- und Br.-Bazillen die übrigen Sera am meisten mitagglutinieren. Die Mitagglutination beträgt — in Form eines Bruches: Zähler = Titer der Mitagglutination, Nenner = Titer der Hauptagglutination —

für Gä-Bazillen: Ty.-S. 1/1, A.-S. 1/4, B.-S. 1/25, Br.-S. 1/75, Gä-S. 1/1.
„ Br. „ „ 1/14, „ 1/12, „ 1/1,7, „ 1/1, „ 1/50.

Man erkennt ferner, daß die Gä-Baz. serologisch eine größere Verwandtschaft zu den Para A- als zu den Para B- und die Br.-Bazillen eine größere zu Para B als zu Para A aufweisen, also sich umgekehrt verhalten wie in kultureller Beziehung. Die gegenseitige Beeinflussung beider Stämme ist dagegen nicht sehr erheblich.

Ein entsprechendes Verhalten zeigen auf der anderen Seite die Para A- und B-Stämme zu den entsprechenden Seris. Eine Ausnahme

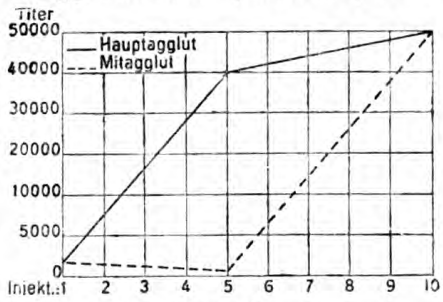
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stamm	Titer 20 000 Ty-Immuns.	Titer 20 000 Para A-I.-S.	Titer 50 000 Para B-S.	Titer 100 000 Gärt. I.-S.	Titer 50 000 Bresl. I.-S.
Ty-Labor.	20 000	1 000	2 000	20 000	500
Ty A	10 000	200	200	200	200
Ty B	20 000	2 000	1 000	10 000	1 000
Ty Hyg.	2 000	10 000	2 000	20 000	1 000
Para A-Stol.	30	20 000	100	500	0
„ 6	50	20 000	500	1 000	0
„ 619	30	20 000	0	500	0
„ 620	100	20 000	100	500	0
„ B 4	200	1 000	50 000	300	2 000
„ 391	50	0	20 000	500	2 000
„ 1011	100	1 000	50 000	200	3 000
„ 4156	200	1 000	50 000	500	3 000
„ 1399	50	0	500	1 000	50
„ Hyg.	100	1 000	50 000	300	5 000
Gärt. 317	20 000	5 000	2 000	100 000	200
„ 325	20 000	5 000	2 000	100 000	0
„ 345	20 000	5 000	2 000	100 000	200
„ 367	20 000	5 000	2 000	100 000	0
„ 5314	20 000	5 000	3 000	100 000	500
„ 5321	20 000	5 000	3 000	100 000	500
„ 5325	20 000	5 000	3 000	100 000	500
„ 5338	20 000	5 000	3 000	100 000	500
„ 3253	20 000	5 000	3 000	100 000	500
„ 4109	20 000	5 000	3 000	100 000	500
Bresl. Lab.	2 000	5 000	20 000	2 000	50 000
„ Hammel	500	2 000	20 000	2 000	50 000
„ Makrele	2 000	10 000	50 000	2 000	50 000

macht nur Para B 1399 (Kulturell erweist er sich als einwandfrei). Die Mitagglutination beträgt für

Para A: Ty. B-S. 1/400, Para A-S. 1/1, Para B-S. 1/285, Gä-S. **1/160**, Br.-S. 0.
Para B: „ 1/200, „ 1/33, „ 1/1, „ 1/277, „ **1/19**.

Nach den Arbeiten von Aoki und Konno liegt der Grund zur Mitagglutination (teilweise) an der Art der Immunisierung. Diese Autoren berichten nämlich, daß bei Typhusimmunisierung der Kaninchen mit abgetötetem Material nach der 3. und 4. intravenösen Impfung im allgemeinen der Titer der Mitagglutination gegen Para B — es wurden nur Para B-Stämme zur Kontrolle herangezogen — schneller stieg als der Hauptagglutinationstiter, und daß dieser nach der 7.—9. Einspritzung vom Nebenagglutinationstiter erreicht und in einigen Fällen sogar überflügelt wurde. Dagegen war vor der 3.—4. Einspritzung das umgekehrte Verhalten der beiden Titer festzustellen. In einer Kurve ausgedrückt — ich gebe natürlich nur ein ungefähres Bild — verliefen die beiden Titer etwa folgendermaßen.



Kurve 1.

In dieser Arbeit ist jedoch nicht erwähnt worden, ob die Stämme schon bei anderen Immunseren eine derartige Mitagglutination gezeigt haben und ob nicht zufällig ein oder mehrere Stämme verwendet worden sind, die schon an und für sich näher verwandt waren, d. h. in kultu-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

reller Hinsicht näher zusammenstanden, als die eigentlichen typischen Vertreter dieser beiden Gruppen.

Auf meine 4 Sera, die allerdings mit lebenden Bazillen hergestellt wurden, treffen die Befunde von Aoki und Konno nur teilweise zu. Im Durchschnitt betrug die Mitagglutination nach der 4. Injektion dieser 3 Sera 1/10, 1/25 und 1/50. Der letzte Befund stimmt also ungefähr mit den Befunden von A. und K. überein. Dagegen zeigt sich die Mitagglutination bei intravenöser Impfung mit lebendem Material zunächst etwas vermehrt, später scheint sie dagegen geringer zu werden (s. unten). Sonst zeigte aber z. B. das Para B-Serum gegen Breslau-Bazillen einen Bruch von 1/2—1/1 und das Para A-Serum gegen Gä-Bakterien einen solchen von 1/4, also einen Befund, der wohl kaum auf die Art der Immunisierung allein zurückzuführen ist. Auf die in Betracht zu ziehenden Einflüsse werde ich noch zurückkommen. Dagegen zeigt das Gä-Serum, das nach 8 Einspritzungen gewonnen wurde, im höchsten Falle einen Bruch von 1/50, also gerade das entgegengesetzte Verhalten, wie es von A. und K. beobachtet wurde. Natürlich sollen aus dem Verhalten dieser einen Sera durchaus keine bindenden Schlüsse gezogen werden. Ich möchte nur diese Tatsachen feststellen.

Außerdem kommen wohl noch andere Gesichtspunkte in Frage bei der Mitagglutination, als nur die Art der Immunisierung. Zunächst ist wohl die Verwandtschaft der Arten als Erklärung heranzuziehen. Vielleicht ist es auch möglich, daß die Mitagglutination z. B. von Ty und Para B um so größer wird, je mehr sich die Stämme einander nähern. Es müßte also dieses Verhalten am besten bei den sogenannten Uebergangsformen zu erkennen sein. Als — allerdings nicht ganz zutreffendes — Beispiel hierfür möchte ich den Ty-Stamm Hyg. anführen. Dieser zeigt sich kulturell als Ty-Stamm mit der einen Ausnahme, daß er Lackmusmolke ganz leicht säuert, aber klar läßt, sich also hier wie Para A verhält. Sein Mitagglutinationstiter ist an den einzelnen Seren folgender: Ty-S. 1/10, Para A 1/2, Para B 1/25, Gä 1/5, Br. 1/50.

Eigentümlicherweise sieht man hier eine starke Mitagglutination auch des Gä-Serums. Ebenso ist der Ty. b kulturell einwandfrei ein Ty-Stamm. Aber auch hier erkennt man, daß er von den 4 Seren am meisten das A und das Gä-Serum beeinflußt.

Ty b, Ty S. 1/1, A.-S. 1/10, B.-S. 1/50, Gä-S. 1/10, Br.-S. 1/50.

Die ziemlich hohe Mitagglutination des Gä-Serums ist ja nicht weiter verwunderlich.

Dagegen verhält sich der Stamm Ty a gegen alle 4 Sera ziemlich gleich. Auch er ist kulturell einwandfrei ein Ty-Stamm.

Ty a, Ty-S. 1/2, A.-S. 1/100, B.-S. 1/250, Gä-S. 1/500, Br.-S. 1/250.

Eine Möglichkeit, die im Gegensatz zu den anderen Stämmen auffallend hohe Mitagglutination der Gä-Stämme (und in gewisser Beziehung auch der Breslau-Stämme) zu erklären, wäre die, daß man die in diesem Falle ziemlich hohe leichte Agglutinabilität der verwendeten Gä.-Stämme zu ihrem eigenen Immunserum heranzieht. Es läßt sich hier vielleicht sagen: Agglutinieren Gä-Stämme ein Gä-Immunserum leicht, d. h. bis zum Endtiter, dann agglutinieren sie auch I.-Sera von verwandten Stämmen ziemlich leicht hoch, allerdings ist es dabei offenbar nicht notwendig, daß sie gerade die Stämme der Gruppen, denen sie kulturell am nächsten stehen, auch am höchsten agglutinieren.

Wodurch kommt diese hohe Mitagglutination — allein bei Gä- und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Br.-Stämmen (bei den letzten jedoch nicht so ausgesprochen) zustande?

Es ist bekannt, daß Gä-Stämme auf eigene Immunsera, die mit lebenden Kulturen hergestellt sind, viel besser ansprechen als auf Sera, welche aus abgetöteten Bakterien gewonnen werden. Nun ist es naheliegend, für die Gä-Bazillen auch bei fremden Immunseren ein ähnliches Verhalten anzunehmen, während bei anderen Stämmen die Sache gerade umgekehrt liegt, d. h. sie zeigen — wenigstens ist es bei Ty und Paraty B festgestellt — die Neigung, Sera, die mit abgetöteten Bakterien gewonnen sind, ziemlich stark mitzuagglutinieren. Hier machen also die Gä-Bazillen eine offenbare Ausnahme.

Zweitens befähigt wohl die eigentümliche Stellung, welche die Gä- und Br.-Bazillen innerhalb der Typhus-Coli-Gruppe einnehmen, sie dazu, alle ähnlichen, mit lebendem Material hergestellten Sera ziemlich hoch mitzuagglutinieren. Dagegen ist umgekehrt die Mitagglutination der anderen Stämme — Ty-Stämme ausgenommen — den Gä- und Breslau-Seren gegenüber in dem vorliegenden Falle ziemlich gering.

Die Mitagglutination der Gä- und Br.-Baz. beträgt gegen Ty, P. A und B 1/1, 1/4, 1/25.
„ „ „ Br.-Baz. beträgt gegen Ty., P. A und B 1/10, 1/25,1.
„ „ „ P. A und B beträgt gegen Gä-I.-S. 1/100 (Durchschnitt).
„ „ „ „ „ „ „ „ Br.-I.-S., P. A 0, P. B 1/25.
„ „ „ Typhus beträgt gegen Gä- und Br.-S. 1/10 bzw. 1/90 (Durchschnitt).
„ „ „ Gä beträgt gegen Br.-S. 1/100 (Durchschnitt).
„ „ „ Br. „ „ Gä-S. 1/50 („).

(Da ja überhaupt Ty.- und Gä.-Bazillen ihre Sera wechselseitig ziemlich hoch beeinflussen, ist wohl hier die Tatsache nicht so ausschlaggebend, daß das Ty-Serum als einziges Serum nicht aus lebendigem Material hergestellt wurde.)

Um die Virulenz eines aus der Fleischvergiftung herrührenden Stammes — 367 — zu prüfen, wurde folgendermaßen verfahren (es handelte sich um einen Stamm, der seit seiner Verfütterung an eine weiße Maus — 26. Juli 21 — keine weiteren Tierpassagen durchgemacht hatte)[1]).

Zunächst wurde eine Aufschwemmung — A — einer 24-stünd. Agarkultur — je 1 Oese auf 1 ccm 0,85-proz. NaCl Lösung — hergestellt. Dazu kam eine 2. Aufschwemmung — B — ebenfalls 1 Oese auf je 1 ccm NaCl-Lösung. Diese wurde jedoch 24 Std. im Brutschrank belassen und danach $^1/_2$ Std. zentrifugiert. Zum Schlusse wurde noch eine 10 Tage alte Bouillonkultur — Ausgangsmaterial 1 Oese auf 10 ccm Bouillonlösung C — verwandt. Im ganzen wurden von jeder Aufschwemmung je 5 ccm bereitet. Die einzelnen Lösungen wurden, nachdem sie in folgender Weise vorbehandelt waren, weißen Mäusen subkutan 0,5 ccm eingespritzt.

Mit Lösung A I, die nicht zentrifugiert wurde, wurden 6 bzw. 7 Tiere in folgender Weise geimpft. Bei Tier 1 wurde die Lösung nicht erhitzt, das Tier starb nach 24 Std.; für jedes folgende Tier wurde je 1 ccm der Lösung auf 56° 30 Min., 80° 20 Min., 100° 15 Min., 120° 10 Min. und 150° 5 Min. erhitzt und ihm nach Abkühlung einverleibt. Krank wurden die Tiere Nr. 2 — 56° 30 Min. — und Nr. 3 — 80° 20 Min.; sie erholten sich jedoch nach 6 Tagen und lebten noch nach 6 Wochen. Tier 4 — 100° 15 Min. — starb nach 3 Tagen, in den Leberausstrichen fand sich Gärtner in Reinkultur, das Tier starb deshalb, weil — wie sich nachträglich herausstellte — die Temperatur von 100° im Ofen nicht

1) Die Prüfung erfolgte März 1922.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erreicht war. Das Kontrolltier 4a — ebenfalls 100° 15 Min. — blieb am Leben. Die Tiere 5 und 6 — 120° 10 Min. und 150° 5 Min. — waren 1 bzw. ½ Tag krank, erholten sich dann aber wieder und waren noch nach 6 Wochen munter.

Die Lösung A II, welche ½ Std. scharf zentrifugiert wurde, wurde 6 Mäusen in derselben Weise wie Lösung A I einverleibt. Die Lösung war fast keimfrei. Die Agarplatte, auf der 2 Oesen ausgestrichen waren, zeigte nach 20 Std. etwa 50 kleine Kolonien. Die Tiere erkrankten alle, erholten sich jedoch nach 6, 4, 3, 3, 2 und ½ Tag wieder vollständig und waren nach 6 Wochen nach der Impfung vollkommen munter.

In derselben Weise wurde mit Lösung B — dem Zentrifugat einer 24-stünd. Aufschwemmung von Gärtner-Bazillen in 0,85-proz. NaCl-Lösung (s. o.) — verfahren. Die Lösung war vollständig keimfrei. Agarplatte war steril nach 20 Std. Die Mäuse 1, 2 und 3 — d. h. also die Tiere, bei denen die Lösung unvorbehandelt, bzw. bei 56° 30 Min. und bei 80° 20 Min. erhitzt war, wiesen nach 16—18 Std. Lähmung der hinteren Extremitäten, verminderte Freßlust und struppiges Fell auf. Tier 1 und 2 gingen nach 22 bzw. 34 Std. ein, während sich Tier 3 erholte. Die anderen Tiere waren nur einige Tage krank, doch hatte ihnen die Impfung weiter nicht geschadet.

Tier 1 A, das nur 0,1 ccm der unbehandelten Lösung erhalten hatte, starb unter denselben Anzeichen wie Tier 1, 2, 3 nach 69 Std. Bei keinem Tier ließen sich in den Organen Gärtner-Bazillen (Schnitt, Kultur) nachweisen.

Zum Schluß wurde noch Lösung C — das fast keimfreie Zentrifugat einer 10-tägigen Bouillonkultur — den Tieren in der oben bereits geschilderten Weise einverleibt. Hier trat die Wirkung der Einspritzung schon nach 6—8 Std. auf; sie war die gleiche wie bei Lösung B. Es erkrankten alle Tiere ziemlich erheblich, jedoch die Tiere 1, 2, 3, 4 wesentlich stärker als die Tiere 5 und 6. Die Tiere 1—4 zeigten alle Lähmung der hinteren Gliedmaßen, Tier 1 und 2 starben nach 12 bzw. 20 Std., während sich die anderen langsam nach 5—7 Tagen erholten und nach 6 Wochen noch vollständig munter waren. Tier 1a, das 0,1 ccm der unerhitzten Lösung erhalten hatte, ging nach 24 Std. ein. Gärtner-Bazillen wurden auch hier nirgends gefunden.

Befund bei den erkrankten und eingegangenen Mäusen:

A. bei den subkutan geimpften Mäusen:
1. mit Aufschwemmung
2. „ „ zentrifugiert
3. „ 10-täg. Bouillonkultur
4. „ „ „ zentrifugiert

B. bei den gefütterten Mäusen.

Die mit lebenden Kulturaufschwemmungen A geimpften Mäuse zeigten nach 8—24 Std. Lähmung der hinteren Extremitäten, dazu traten gehäufte Stühle und Durchfälle. Alle Tiere wiesen struppiges Fell auf und ließen stark verminderte Freßlust erkennen. Der Tod erfolgte nach 1, 1½—3 Tagen.

Den mit abgetötetem Material (Lösung A u. B. II—IV) geimpften Mäusen erging es wesentlich besser. Bei ihnen fehlten die Lähmungserscheinungen, sonst war aber das Bild das gleiche. Von ihnen starb jedoch keine, sondern es erholten sich im Laufe von 2—7 Tagen alle Mäuse wieder.

Bei den mit lebendem Material gefütterten Mäusen, etwa ⅒ Oese,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dauerte es 5—8 Tage bis zur vollständigen Entwicklung des Krankheitsbildes. Es entsprach den oben geschilderten Bildern. Lähmungen traten nur vereinzelt — bei 24 Tieren 4mal — auf. Im Durchschnitt starben die Tiere 16 Tage (10—25) nach der Fütterung. Während dieser Zeit waren sie erheblich abgemagert und boten das Aussehen von schwer erkrankten Tieren.

Die Ergebnisse bei der Sektion waren bei den Tieren der Gruppe A folgende: Hyperämie der Unterleibsorgane, leichte Schwellung der Leber und Milz, Enteritis acuta.

Aus Herz, Leber, Milz, Nieren, Lungen und Muskulatur ließen sich Gä-Bazillen in Reinkultur züchten. Alle frisch gewonnenen Kulturen bildeten typische Wälle. Auch in Darmausstrichen ließen sich erhebliche Mengen von Gä-Bakterien nachweisen.

Mikroskopisch wurde die Leber untersucht. Hier war ein eigentlicher pathologischer Befund, außer einer ziemlichen Blutfülle, nicht festzustellen. Auf Bakterienfärbungen nach Nicolai fanden sich in der ganzen Leber wahllos verstreut Gä-Bazillen, und zwar meist in Haufen von 5—30 Stäbchen zusammenliegend. Einzelne Stäbchen sah man seltener. Die größten Bakterienansammlungen konnte man an den Gefäßen — hauptsächlich Venen — und ihrer näheren Umgebung feststellen. Es machte hier den Eindruck, als ob die Bazillen aus den Gefäßen in das Leberparenchym einwanderten. Am deutlichsten sah man diese Erscheinung an den kleinen und mittleren Kapillaren. Von hier schienen die Bakterien gleichmäßig nach allen Seiten in das Lebergewebe einzudringen. Sonst ließen sich, wie gesagt, keine stärkeren pathologischen Veränderungen (Amyloid, Verfettung) nachweisen. Dies ist ja auch nicht weiter verwunderlich, wenn man bedenkt, daß die eine Maus — Impfung 0,5 ccm — bereits nach 20 Std. und die 2. Maus — Impfung 0,1 ccm — nach 2 Tagen eingegangen waren. Bei der 2. Maus war jedoch die Hyperämie noch ausgesprochener; dazu trat ein ziemliches Oedem. Bakterienfärbungen ergaben dasselbe Bild wie oben.

Dieser verhältnismäßig geringe pathologische Befund ließ sich jedoch nur an Mäusen erheben, die innerhalb 24—60 Std. nach der 1. Impfung gestorben waren. Bei Mäusen, welche am 5.—6. Tage nach der Impfung eingingen — es waren die Tiere, welche mit kleineren Dosen $^1/_{20}$—$^1/_{50}$ Oese und mit bei 56° erhitzten Kulturen gespritzt waren — ließen sich wesentlich schwerere Veränderungen feststellen. Hier sah man schon makroskopisch erhebliche Nekrosen, in einem Fall z. B. war mindestens $^1/_5$ der Leber nekrotisch. Das mikroskopische Bild entsprach den bei gefütterten Mäusen erhobenen Bildern.

Bei den gefütterten, eingegangenen Tieren war das Sektionsbild folgendermaßen: Hyperämie der Unterleibsorgane, beträchtliche Schwellung der Leber mit teilweise recht bedeutenden Nekrosen, Schwellung der Milz und Nieren, akute hämorrhagische Enteritis, starke Abmagerung, Pneumonie. Auch hier konnten wieder aus Herz, Nieren usw. Reinkulturen von Gärtner-Bakterien erhalten werden.

Ebenso wurde die Leber wieder genauer untersucht. Hier kann in sämtlichen Fällen eine sehr starke Hyperämie und Oedem festgestellt werden. Dazu treten — wie bereits erwähnt — zahlreiche Nekrosen, die durch die ganze Leber verstreut sind und keinen besonders bevorzugten Sitz haben. Ihre Größe schwankt zwischen 20—200 μ im Durchmesser; ihre Form ist sehr mannigfach. In manchen liegen noch Häufchen von weißen Blutkörperchen. Alle Nekrosen sind scharf gegen die Um-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gebung abgesetzt, das erkennt man besonders gut auf den Bakterienfärbungen. Sie sind mit einem teilweise noch ziemlich deutlich ausgebildeten Leukozytenwall umgeben. Weiterhin bemerkt man noch an anderen Stellen zahlreiche, bereits etwas aufgehellte Lebergewebsteile mit massenhaften Leukozyten; es sind dies beginnende Nekrosen. Von einer bindegewebigen Regeneration ist noch nichts wahrzunehmen.

Ueber die ganze Leber sind massenhaft weiße Blutkörperchen verstreut; es handelt sich also um eine diffuse, akute Hepatitis. Daß hier nur eine durchaus akut verlaufende Entzündung in Betracht kommt, beweisen, neben dem klinischen Verlauf, auch die fast ausschließlich vertretenen Neutrophilen und zum Teil auch ihre Vorstufen. Die Wirkung der Einspritzungen muß doch auf das Lebergewebe ziemlich erheblich gewesen sein, daß die Neutrophilen allein nicht ausgereicht haben, um die Eindringlinge niederzuhalten, geschweige denn zu vernichten. — Blutungen in das Parenchym lassen sich nicht nachweisen. — Auch die Lebergefäße sind von den Schädigungen ergriffen. Und zwar sind es hauptsächlich die Kapillaren, deren Endothelien gewuchert sind, während an den größeren Gefäßen außer einer hier und da auftretenden kleinzelligen Infiltration noch keine stärkeren Veränderungen sichtbar sind. Ebensowenig sind Zeichen einer amyloiden Degeneration nachzuweisen. — Der Bazillenbefund deckt sich insofern mit dem oben beschriebenen, als sich im ganzen Lebergewebe wahllos verstreute Bazillenhaufen erkennen lassen. Auch in den Nekrosen liegen sie, allerdings hier nicht so zahlreich wie in den sonstigen Leberabschnitten. — Die Untersuchung der Mäuseleber Nr. 32 ergab denselben pathologischen Befund, mit der Ausnahme, daß die Gärtner-Bazillen fehlten.

Die Nieren boten bei den rasch verendeten Tieren im Verhältnis zur Leber wesentlich stärkere Veränderungen dar. Auch hier beherrscht zuerst eine ausgesprochene Blutfülle das Bild. Am meisten sind die Glomeruli hiervon betroffen. Blutungen ins Gewebe sind nicht wahrzunehmen. — Um die Glomeruli liegen Häufchen von Rundzellen, an den Knäueln selbst ist in manchen Fällen schon eine ganz ausgesprochene Kernvermehrung zu beobachten. Die abführenden Harnwege zeigen fast durchweg eine erhebliche trübe Schwellung, die nur an vereinzelten Stellen etwas geringer ist. Dazu gesellt sich eine leichte Verfettung der Harnkanälchen. Veränderungen an den Gefäßen lassen sich nicht feststellen. — Die Bazillen sind auch hier über das ganze Gewebe verbreitet, jedoch liegen sie im allgemeinen nicht in so großen Haufen zusammen wie in der Leber. Die Hauptsammelplätze sind für sie die Schlingen der Glomeruli. Aber auch hier trifft man sie nur in kleineren Gruppen — 5—10 — an. Ebenso findet man sie in den Lichtungen der Harnkanälchen.

Bei der 2. Gruppe sind die krankhaften Veränderungen an den Nieren noch stärker. Die Blutfülle ist weiter vermehrt, besonders in den Glomerulis und den Gefäßen, welche die Markkegel versorgen. An den größeren Gefäßen sind — genau wie an der Leber — keine besonderen Abweichungen außer gelegentlicher kleinzelliger Infiltration — zu bemerken, dagegen ist eine deutliche Wucherung des Kapillarendothels und des Endothels der kleineren Gefäße sichtbar. — Ueber das ganze Gewebe sind massenhaft Leukozyten verstreut, Nekrosen sind nicht vorhanden. Wahrscheinlich kommt das daher, weil die Niere bemüht ist, die Fremdlinge so schnell wie möglich wieder auszuscheiden, während die Leber die Bakterien abfängt, um sie bei sich unschädlich zu machen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hier werden also viel mehr Giftstoffe angesammelt und diese können dann natürlich entsprechend größere Veränderungen hervorrufen, obgleich ja das Leberparenchym widerstandsfähiger ist als das der Nieren. Im vorliegenden Falle sind die krankhaften Erscheinungen an den Nieren noch weiter ausgeprägt. Die Glomeruluskapseln sind zum Teil gewuchert und die ableitenden Harnkanälchen noch mehr geschwollen, außerdem führen sie Hämoglobinschollen und Trümmer roter Blutkörperchen mit sich in ihren Lichtungen. Die Nieren befinden sich im Zustande der diffusen hämorrhagischen Nephritis und Nephrose (Beteiligung der Glomeruli und der ableitenden Harnwege). — Das Bakterienbild ist gegen das oben geschilderte nicht wesentlich verschieden. — Auch die Niere des Tieres 32 läßt Aehnliches erkennen, mit der Ausnahme, daß hier die Bazillen fehlen. Es kann also auch das Gärtner-Bazillentoxin allein dieselben Zustände erzeugen.

Untersucht wurden im ganzen die Organe (Leber, Niere) von 20 Tieren. Es ließ sich nachweisen, daß die Veränderungen mit der Länge der Krankheitsdauer zunahmen. — Die Lebernekrosen traten ungefähr ein, wenn der Tod am 12.—14. Tage nach der Fütterung und etwa 6 Tage nach der Einspritzung erfolgt war. Vorher bestand nur eine Hepatitis mit Oedem, allerdings konnte man manchmal die Stellen beginnender Nekrosen entdecken. Länger als 22 bzw. 6 Tage lebte keine Maus nach der Fütterung oder Impfung. — Auch die Nierenveränderungen zeigten ähnliche Bilder, jedoch waren hier nicht die scharfen Uebergänge vorhanden.

Fassen wir die Untersuchungsergebnisse zusammen, so läßt sich sagen, daß durch die subkutane Impfung — auch mit abgetötetem Material — die Mäuse wesentlich eher sterben als durch die Darreichung per os; $^1/_2$—6 Tage auf der einen und 10—22 Tage auf der anderen Seite. Bei der Lebererkrankung lassen sich gut 3 Grade: Hyperämie — Oedem, Hepatitis diffusa, Hepatitis diffusa + Nekrosen — unterscheiden. Bei der Niere sind diese Uebergänge nicht so deutlich.

Der zu den Versuchen verwandte Gä-Stamm ist also für weiße Mäuse ziemlich pathogen. Nach den Ergebnissen zu urteilen, bildet der Stamm ein lösliches Gift, wenn er in Bouillon eine Zeitlang gehalten wird, das ohne allzu wesentliche Beeinträchtigung seiner Wirksamkeit eine Temperatur von 56° bis zu 1 Std. vertragen kann. Höhere Wärmegrade zerstören es in kurzer Zeit. Es handelt sich demnach um ein thermolabiles Toxin. Aus den Untersuchungsbefunden geht weiterhin hervor, daß zur Erzeugung der Leber- und Nierenveränderungen auch das Toxin der Gärtner-Bazillen allein imstande ist. Jedoch braucht das Gift eine längere Zeit, um dieselben Zerstörungen hervorzurufen wie die lebenden Bazillen.

Zur Prüfung der Virulenz dienten zunächst die Versuche A—D. Dazu traten noch folgende zur Ermittelung einer etwaigen Virulenzsteigerung. Als Ausgangsmaterial diente eine 24-stünd. Agarkultur des Stammes 367, der seit dem 15. Aug. 21, d. h. also 8 Mon., keine Tierpassage — Verfütterung von eingesandtem Cornedbeef — mehr durchgemacht hatte. Von dieser Kultur wurde 1 Oese in 10 ccm NaCl-Lösung gelöst und hiermit 2 Mäuse mit $^1/_2$ bzw. $^1/_5$ Oese subkutan geimpft. Dann wurde, wie folgt, fortgefahren.

A. Ausgangsmaterial $^1/_2$ und $^1/_5$ Oese.

Tiere Nr. 1 und 2 — $^1/_2$ bzw. $^1/_5$ Oese Impfung — erkrankten bald schwer und starben nach 24 bzw. 96 Std.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die mit dem Ausgangsmaterial von Tier 1 — Leberausstrich bei 37° 20 Std. Brutschrank — geimpften Tiere 3 und 4 $^1/_5$ bzw. $^1/_{10}$ Oese — starben nach 18 bzw. 72 Std.

Die mit dem Ausgangsmaterial von Tier 3 (Leberausstrich s. o.) mit $^1/_{10}$ bzw. $^1/_{20}$ Oese geimpften Tiere gingen nach 12 bzw. 56 Std. ein.

Eine deutliche Virulenzsteigerung des Stammes läßt sich demnach durch eine 3—4malige Tierpassage erzielen. Wie lange diese gesteigerte Wirkung auf künstlichen Nährböden bestehen bleibt, ist nicht untersucht.

Wodurch kamen nun die stürmischen Vergiftungserscheinungen während der Epidemie selbst zustande?

Der Gärtner-Stamm hatte überall einen ihm zusagenden Nährboden gehabt: Rind bzw. Wurst und Cornedbeef. Er konnte sich also gut entwickeln und ein ziemlich wirksames Gift erzeugen. Durch den außerordentlich günstigen Nährboden war es ihm außerdem möglich, in ziemlicher Menge zu wachsen. Die angelegten Anreicherungen — 1 Stück Wurst 3 Tage in Rindergalle bebrütet — ergaben auch ziemlich zahlreiche Gärtner-Kolonien.

Fernerhin haben wir gesehen, daß im Durchschnitt für den Mann etwa 65 g Wurst verausgabt wurden; der Mann konnte also auf einmal eine ganze Menge Bazillen zu sich nehmen.

Dazu ist noch als erheblich schwankender Faktor die Empfindlichkeit des einzelnen auf eine Ueberschwemmung seines Magendarmkanals mit diesen Bazillen in Rechnung zu stellen. Der eine reagiert kaum darauf, obgleich er eine ganze Menge von der fraglichen Wurst genossen hat, während der andere trotz des Genusses einer ganz geringen Menge sehr schwer erkrankt. Als Durchschnitt können wir wohl eine fast absolute Morbidität annehmen, die allerdings auch wieder leicht, mittel und sehr schwere Fälle aufweist.

Auffällig an der Epidemie ist, daß gegen Ende auch die Vergiftungsfälle leichter verlaufen, während am Anfang es sich zunächst zu ziemlich bedrohlichen Erscheinungen kam. So hatte z. B. das Lecken an einer Wurstschale genügt, um einen Darmkatarrh zu verursachen. Dagegen rief einige Tage später verzehrte Wurst fast ausnahmslos leichte Erkrankungen hervor.

Der mildere Verlauf der Erkrankungen in der letzten Zeit läßt sich wohl zum Teil auf folgende Umstände zurückführen: Dadurch, daß die Wurst angeschnitten wurde, gelangten auch noch andere Bakterien in die Wurst, diese überwucherten dann im Verlauf einiger Tage wenigstens einen Teil der Gärtner-Bazillen, so daß sie weniger Schaden anrichten konnten. So war z. B. die eine Wurstprobe angeschnitten, in dieser fanden sich auch keine Gä-Bazillen, dagegen in der anderen vollständigen Wurst und in den tieferen Teilen des Cornedbeefs. Vielleicht haben auch dem Menschen nicht schädliche Eiweißzersetzungen — die Epidemie fand ja im Sommer statt — eine gewisse, die Bazillen so schädigende Rolle gespielt. Ferner sind die Gärtner-Bazillen wohl auch durch das Aufbewahren der Wurst in kühlen Räumen in ihrer weiteren Entwicklung gehindert worden. Dadurch ist auch sicher ihre Virulenzzunahme gehemmt, wie aus den angestellten Fütterungsversuchen hervorgeht. Denkbar ist es aber auch, daß der Luftabschluß in dieser Richtung auch eine hemmende Wirkung entfaltet hat.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Leider ließ sich durch meine Fütterungsversuche der Beweis für meine Annahme — Ueberwuchern der harmlosen Bakterien, Eiweißzersetzungen, Luftabschluß — nicht einwandfrei erbringen. Das ist wahrscheinlich zum Teil auf die im Verhältnis viel zu großen Bakterienmengen zurückzuführen.

Die Versuche gingen folgendermaßen vor sich.

Auf jede — 10—15 g schwere — Scheibe Teewurst wurde $^1/_2$ ccm $= {}^1/_{10}$ Oese einer 24-stünd. Agarkultur gegossen. Dann setzte die Bebrütung ein. Es wurden je 2 Scheiben 24 Std., 3×24 Std. und 6×24 Std. bei 56° bebrütet und damit je 2 Mäuse gefüttert; alle Tiere blieben gesund, die Wurst war keimfrei.

Dasselbe Verfahren wurde bei 37°, 20° und 8° angewandt — d. h. also bei 37°, 20° und 8° je 24 Std., 3×24 Std. und 6×24 Std. Bebrütung. — Hier gingen alle Tiere nach 8—22 Tagen, unter enteritisähnlichen Erscheinungen ein, mit Ausnahme der, welche Wurst — Bebrütung 3×24 Std. bei 37° und 6×24 Std. bei 8° — erhalten hatten. Hier ließen sich auch keine Gärtner-Bazillen in der Wurst mehr nachweisen.

Dann wurden je 2 Scheiben Wurst 24 Std. bzw. 3×24 Std. bei 37° und 3×24 Std. bei 20° bebrütet, ebenso 24 Std. bzw. 3×24 Std. bei 37° und 3×24 Std. bei 8° und schließlich noch 24 Std. bzw. 3×24 Std. bei 20° und 3×24 Std. bei 8°. Hier fanden sich überall spärlich Gärtner-Bazillen. Von den Tieren war jedoch innerhalb 4 Wochen keines gestorben, ebensowenig ließen sich in den Ausscheidungen der Tiere Gärtner-Bazillen nachweisen.

Neben der Wurst erhielten die Mäuse am nächsten Tage ihr übliches Futter. Vorherige Untersuchungen ihrer Ausscheidungen ergaben keine Gärtner- oder Gä-ähnlichen Bazillen. Im ganzen wurde die Wurst an 40 Tiere verfüttert.

Es ließ sich hier nachweisen, daß ein oberflächlicher Abstrich zahlreiche andere Bakterien ergab, in tiefen Stichen fanden sich jedoch fast stets Reinkulturen. Ihre Virulenz ist anscheinend nur bei längerem Aufenthalt in der Kälte stärker beeinträchtigt worden, während umgekehrt — d. h. also das Bringen der Gärtner-Bazillen aus der Kälte in die Wärme — ihre Giftigkeit steigern soll. Hierin verhalten sich wohl alle Stämme ungleichmäßig; außerdem ist noch als nicht bestimmbare Größe die Empfänglichkeit der einzelnen Maus für die Gärtner-Bazillen zu berücksichtigen. Daher läßt sich also aus diesen Ergebnissen nicht ohne weiteres die Virulenz des Gärtner-Bazillus bei verschiedenen Temperaturen bestimmen. Ueberdies ist die zu den Versuchen verwandte Anzahl von Tieren viel zu klein, um ein klares Urteil über das Verhalten des Gärtner-Bazillus zu gewinnen.

Zusammenfassung.

Die durch den Bacillus enteritidis Gärtner verursachte Wurstvergiftung wies eine fast absolute Morbiditätsziffer — 97,6 Proz. — auf. Die Erkrankungen verliefen in 50 Proz. zuerst ziemlich schwer, es trat jedoch sehr schnell eine Besserung ein. Todesfälle wurden nicht beobachtet. Bei der Epidemie in der Marine bekam man auffällig viel Vergiftungsfälle mit ausgeprägten zerebralen Symptomen — 17 Proz. — zu Gesicht. Auch hier erfolgte sehr bald Genesung. Störende Nacherscheinungen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ließen sich nicht nachweisen. Im ganzen konnte man 3 Gruppen der Vergiftung unterscheiden; die enteritische, die zerebrale und die febrile.

Die gefundenen Bakterien verhielten sich kulturell und serologisch wie Gärtner-Bazillen, mit kleinen Abweichungen. Sie bildeten stark Gas, Säure, jedoch kein Indol. Kulturell-differentialdiagnostisch ließen sich die untersuchten 4 Gruppen — Para A u. B Gärtner und Breslau — durch ihr verschiedenes Verhalten, Lackmusmolke, Rhamnose, Arabinose und Xylose gegenüber trennen, dazu kam das Wallbildungsvermögen. — Serologisch zeigten alle untersuchten Gärtner-Stämme sehr starke Mitagglutination des Ty- und auch des Para A-Serums, während sie kulturell mehr dem Para B (Wallbildung) nahestanden. Dagegen wiesen die Breslaustämme eine große Mitagglutinationsfähigkeit dem Para B-Serum gegenüber auf, kulturell ähnelten sie jedoch stark dem Para A. — Die Mitagglutination durch Gärtner- und Breslaubazillen war zum Teil ziemlich hoch; vielleicht liegt dies Verhalten teilweise an der nicht scharf umschriebenen Stellung dieser Bakterien in der Typhus-Coli-Gruppe. Daß auch die Art der Immunisierung einen gewissen Einfluß auf die Mitagglutination ausübt, ist nicht ausgeschlossen. Jedoch sind die hier gesammelten Erfahrungen und Beobachtungen zu gering, um bindende Schlüsse aus ihnen zu ziehen.

Fütterungs- und Impfversuche zur Virulenzprüfung der Gärtner-Bazillen bei weißen Mäusen ergaben regelmäßig den Tod der mit 1 Oese gefütterten und mit $^1/_{10}$ Oese gespritzten Tiere nach durchschnittlich 10—18 Tagen bzw. 1—3 Tagen. Die Sektion zeigte im ersten Falle eine akute Enteritis und Hyperämie der Unterleibsorgane mit Milztumor, einer vom 6. Tage ab stark vergrößerten und vom 12.—14. Tage mit zahlreichen Nekrosen durchsetzten Leber. Mikroskopisch sah man eine akute, diffuse Hepatitis mit zahlreichen, wahllos durch die ganze Leber verstreuten kleinzelligen Infiltrationen der großen, und Endothelwucherungen der kleinen Gefäße, kleine und große Nekrosen und massenhaft in Haufen von 10—30 Stück liegende Bakterien. Die Nieren boten bei den beiden Gruppen folgende Bilder: Hyperämie, trübe Schwellung, diffuse akute Nephritis, Blutkörperchen in den Harnkanälchen und Kapselwucherungen der Glomeruli; dazu kamen dieselben Gefäßschädigungen wie in der Leber; im anderen Falle trübe Schwellung und Blutüberfüllung mit beginnender Kernvermehrung in den Glomerulis. Ueberall lagen massenhaft Bakterien, die meisten ließen sich in den Glomerulusschlingen nachweisen. Aus Herz, Leber, Nieren Milz, Lunge und der Muskulatur wurden Gärtner-Bazillen in Reinkultur gezüchtet, ebenso gelang der Nachweis erheblicher Mengen im Magendarmkanal.

Tiere, welche mit abgetötetem Material geimpft wurden, erholten sich im Verlauf von 5—10 Tagen. Eine Ausnahme machten die Tiere, welche mit der auf 56° erhitzten 10-tägigen Bouillonkultur geimpft waren; sie gingen nach 2—4 Tagen ein. Bei ihnen fanden sich auch die typischen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lebernekrosen und die oben geschilderten Nierenveränderungen. Nur gelang es hier nicht, lebende Bakterien aus den Geweben zu züchten. Das Gift konnte also hier allein derartige Veränderungen hervorrufen. Es handelt sich demnach um ein bis zu 56° wärmebeständiges, lösliches Toxin.

Durch wiederholte Tierpassagen ließ sich die Virulenz der Gärtner-Bazillen deutlich steigern.

An weiteren Fütterungsversuchen mit Mäusen, die zur Klärung des Verlaufes der Wurstvergiftungsepidemie nach einem bestimmten Schema vorgenommen wurden, ließ sich, leider nicht ganz einwandfrei, nachweisen, daß das längere Liegenlassen der Wurst bis zu 6 Tagen bei niedriger Temperatur das Wachstum und die Virulenz der Gärtner-Bakterien abschwächt. Es starb immerhin im Gegensatz zu den Tieren, die mit bei 37° bzw. 20° bebrütetem Material gefüttert waren, kein Tier.

Infolge der gewaltig gestiegenen Druckunkosten ist es nicht möglich, ausführliche Kurven und Tabellen zu veröffentlichen.

Literatur.

1) Amako, Ein Beitrag zur Pathogenese der Fleischvergiftung. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 66. 1911.) — Aoki u. Konno, Studien über Beziehungen zu der Haupt- und Nebenagglutination. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. H. 2 u. 4.) — 3) Aumann, Ueber Befunde von Bakterien der Paratyphusgruppen usw. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 57. 1911.) — 4) Bahr, Gärtner-Bazillen und Rattenschädlinge. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 79.) — 5) Ders., Kurze Mitteilungen über einige Untersuchungen von zur Paraty-Gruppe gehörigen Bakterien. (Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1919. S. 219.). — 6) Bernhardt, Beitrag zur Frage der Fleischvergiftung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1907. S. 107.) — 7) Biewald, Kas. Beitrag zur Fleischvergiftung. [Inaug.-Diss.] Gießen 1909. — 8) Bitter, Gärtner-Bazillen und Cholecystitis. (Dtsch. med. Wochenschr. 1919.) — 9) Ders., Massenerkrankung an Gastroenteritis (Breslaubazillen). (Ztschr. f. Hyg. Bd. 90. 1920.) — 10) Bofinger u. Dieterlen, Beiträge zur Kenntnis der Fleischvergiftungserreger. (Dtsch. med. Wochenschr. 1910. Nr. 35.) — 11) Breckle, Fleischvergiftung. (München. med. Wochenschr. 1910. Nr. 23.) — 12) Bruns u. Kayser, Ueber die Verwertbarkeit des Agglutinationsphänomens zur klinischen Diagnose. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 53. 1903.) — 13) Bruns, Paratyphusepidemie in einer Hammelherde. (Ebenda. Bd. 90.) — 14) Buhrmann, Vorkommen von Paratyphus B-Bazillen in Wurst. [Inaug.-Diss.] Gießen 1909. — 15) Castellani, Observations on some intestinal bacteria. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912.) — 16) Conradi, Einkonservierung und Fleischvergiftung. (München. med. Wochenschr. 1909. Nr. 18.) — 17) Dienes u. Wagner, Ueber Paratyphus B-Infektionen. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 87. 1918.) — 18) Dieudonné, Aetiologie der Fleischvergiftungen. (Münch. med. Wochenschr. 1908. S. 938.) — 19) Ditthorn, Verhalten der Ty-Bazillen zu verschiedenen Zuckerarten . . . (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913.) — 20) Dold, Ueber die Lebensdauer von Ty- usw. Bakterien. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 93. 1921.) — 21) Douma, De bakterien de Proteusgroep als oorsaak van vleeschvergiftingen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 68. 1919.) — 22) Durham, Hyg. Rdsch. 1899. S. 702. — 23) Eckert, Vorkommen von Paraty B-Bazillen im Darm gesunder Haustiere. [Inaug.-Diss.] Gießen 1909. — 24) Eisler u. Silberstein, Beiträge zur Bakterienagglutination. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 93. 1921.) — 25) Fainschmidt, Ueber Fleischvergiftungen. (München. med. Wochenschr. 1907. S. 1895.) — 26) Fischer, Die Aetiologie der Fleischvergiftung. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902.) — 27) Frieber, Ist das Gasverhältnis ein Differentialdiagnostikum bei Ty-Coli-ähnlichen Bakterien? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 71. 1913.) — 28) Fromme, Fleischvergiftung durch Paratyphus B. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907.) — 29) Gaethgens, Y-Epidemie. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1918. S. 73.) — 30) Ders., Ueber Fleischvergiftung durch Bakterien der Paratyphus- u. Gärtner-Gruppe. (Ebenda. Abt. I. Ref. Bd. 64. S. 89. 1916.) — 31) Gaffky, Erkrankungen an infektiöser Enteritis . . . (Dtsch. med. Woch. 1892. Nr. 14.) — Ders., Eine Hausepidemie. (Festschr. f. R. Koch. 1903.) — 33) Glaser, Zur Paraty-Infektion durch Fleischwaren . . . (Ztschr. f. Hyg. Bd. 67. 1907.) — 34) Grote, Säure-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

agglutination nach Michaelis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. 1913.) — 35) Gutsche, Sieben Fälle von Fleischvergiftung. (Ebenda. Abt. I. Ref. Bd. 68. 1919.) 36) Heller, Bakt. Befunde bei einer Fleischvergiftung. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907.) — 37) Hennis, Ueber den Paratyphus A. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 84.) — 38) Higgins, Toxic products in food ... (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914.) — 39) Hofmann, Die Agglutination nach intravenöser Injektion des Impfstoffes ... (Ztschr. f. Hyg. Bd. 93. 1921.) — 40) Holth, Fütterungsversuche an weißen Mäusen mit Fleischwaren verschiedener Herkunft. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909.) — 41) Ickert, Gastroenteritis durch Ratinbazillen? (Ebenda. Bd. 77. 1916.) — 42) Isablonsky u. Patzewitsch, Zur Frage über den diagnostischen Wert der Präzipitationsreaktion ... (Ebenda. Bd. 70. 1913.) — 43) Jacobsen, Mitagglutination von Wurstvergiftung ... (Ztschr. f. Fl. u. Milchhyg. Bd. 18. 1913.) — 44) Ders., Ueber eine Epidemie von Fleischvergiftung. (Berl. klin. Wochenschr. 1907. Nr. 12.) — 45) Junghanns, Ueber einige Gruppenerkrankungen an Fleischvergiftung der Gärtner-Bazillen. [Inaug.-Diss.] Kiel 1918. — 46) Klein, Ueber die sogenannte Mutation ... (Ztschr. f. Hyg. Bd. 73. 1913.) — 47) Kligler, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1918.) — 48) Kolle u. Wassermann, Handb. d. path. Mikroorg. Bd. 6. 1913. — 49) Kutscher u. Meinicke, Paraty- und Enteritisgruppe. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 52. 1906.) — 50) Ders., Ebenda. Bd. 55. 1906. — 51) Lebram, Ratinbazillus und Bac. ent. Gärtner. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909.) — 52) Lehmann, Zur Biologie des Paratyphus A. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 81. 1916.) — 53) Liefmann, Widal und Fleischvergiftung. (München. med. Wochenschr. 1908.) — 54) v. Lingelsheim, Zur Frage der Variation der Typhusbazillen ... (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1913.) — 55) Mann, Fleischvergiftung ... (Vjschr. f. ger. Med. Bd. 35. 1908.) — 56) Manteufel, Zschucke u. Beger, Systematische Untersuchungen an Kulturen usw. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921.) — 57) Mießner, Kroupöse Darmentzündung bei Rindern. (Ebenda. Bd. 65. 1912.) — 58) Mühlens, Untersuchungen über Bakterien der Enteritisgruppe. (Ebenda. Bd. 48. 1908.) — 59) Müller, Ueber den Wert und Zweck der Mäusefütterungsversuche. (Ebenda. Ref. Bd. 65. 1917.) — 60) Ders., Zusammenhang des Paraty der Tiere und der Menschen. (Ebenda. Orig. Bd. 80/81. 1918.) — 61) Ders. u. Reiner, Fischfleischvergiftung ... (Münch. med. Wochenschr. 1914. S. 471.) — 62) Ders., Ueber mutationsartige Vorgänge bei Ty und Paraty ... (Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. 52. S. 57.) — 63) Nishino, Paraty B-Bazillen und Mäuse. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 69. 1911.) — 64) Ohno, Paraty-Bazillen ohne Gasbildungsvermögen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1915.) — 65) Penzoldt u. Stintzing, Spezielle Pathol. u. Ther. Bd. 2. S. 666. — 66) Pergola, Ueber einen aus Wurstwaren isolierten Keim. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912.) — 67) Pesch, Verwertbarkeit verschiedener N- und C-Quellen durch die Ty-Coli-Gruppe. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 86. S. 192.) — 68) v. Petzold, Sanitätsbericht der preuß. Armee 1904/05. S. 65. — 69) Piit, Der Bac. noduli-faciens ein Vertreter ... (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909.) — 70) Raether, Psychose nach Fleischvergiftung. (Dtsch. med. Wochenschr. 1910. No. 8.) — 71) Reinhardt, Fleischuntersuchungsmethoden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1912.) — 72) Richter, Beitrag zur Frage der Aetiologie der Fleischvergiftungen. (Berl. klin. Wochenschr. 1909. No. 50.) — 73) Ridder, Fleischvergiftung. (Dtsch. med. Wochenschr. 1910. S. 531.) — 74) Riemer, Ueber eine nach Genuß von Leberwurst ... (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1907.) — 75) Rimpau, Mitagglutination für Ty ... (München. med. Wochenschr. 1909. Nr. 36.) — 76) Ders., Zur Frage der Verbreitung der Bazillen an der Paratyphusgruppe. (Dtsche med. Wochenschr. 1908. Nr. 24.) — 77) Ders., Die Fleischvergiftung in St. Johann ... (Hyg. Rdsch. 1911. S. 12.) — 78) Ders., Arch. f. Hyg. Bd. 76. 1912. — 79) Savage, The sources of infection in food poisoning outbreaks. (Journ. of Hyg. Vol. 17. 1918.) — 80) Ders. u. Forbes, A food poisoning outbreak at Brighton. (Ebenda.) — 81) Seiffert, Münch. med. Wochenschrift 1915. S. 1753. — 82) Simonini, Ueber das Einwirken seltener Erden auf Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914.) — 83) Smith, On the organismen of the Typhoid-Colon Group. (Ibid. Bd. 68. 1913.) — 84) Snijders, Over een geval van Gärtnerbesmetting. (Ebenda. Abt. I. Ref. Bd. 68. 1919.) — 85) Sobernheim, Ueber Enteritisbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 47. 1909. S. 130. Anhang.) — 86) Ders., Hyg. Rdsch. 1912. — 87) Ders. u. Seeligmann, Beobachtungen über die Enteritisgruppe. (Dtsch. med. Wochenschr. 1910. Nr. 8.) — 88) Spiecker, Die Fleischvergiftung und ihre Wechselwirkung zwischen Tierreich und menschlicher Erkrankung. (Hyg. Rdsch. 1919.) — 89) Stern, Beiträge zur Biologie der Para B und Gä-Gruppe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78.) — 90) Stickdorn, Kälberkrankheitserregeruntersuchungen. (Ebenda. Bd. 76. 1915.) — 91) Stokes u. Hachtel, The use of a modified Hesses medium. (Ebenda. Bd. 69. 1913.) — 92) Tiberti, Bakteriologische Untersuchungen über eine Fleischvergiftung. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 60. 1908.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

— 93) Trautmann, Der Bazillus der Düsseldorfer Fleischvergiftung ... (Ebenda. Bd. 45. 1903.) — 94) Ders., Bakterien der Paraty-Gruppe als Rattenschädlinge ... (Ebenda. Bd. 54. 1906.) — 95) Trawinski, Bakterien der Ty- und Coli-Gruppe im Darminhalt der Schweine. (Ebenda. Bd. 83. 1918.) — 96) Ders., Meerschweinchenepidemie durch Gärtner-artige Bazillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1921.) — 97) Tsurmi, Berlin. klin. Wochenschr. 1915. S. 1142.) — 98) Wagner, Zur Epidemiologie der Bakterien von Paraty A. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 90. 1920.) — 99) Weichell, Ueber Einwirkung von NaCl auf Fleischvergiftungserreger. (Arb. a. d. Kais. Gesdhtsamt. Bd. 34. 1910.) — 100) Wendtlandt, Atypische Bakterien der Paraty-Gruppe. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 93. 1921.) — 101) Wolff, Zur bakter. Differentialdiagnose zwischen Para A und B. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1918.) — 102) Zipfel, Zur Kenntnis der Indolreaktion. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 64. 1912.) — 103) Zupnik, Differentialdiagnostische Bedeutung der Agglutination für Ty und Paraty. (Dtsch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 44.) — 104) Zwick u. Weichell, Vorkommen von Fleischvergiftern in Pökelwaren. (Arb. a. d. Kais. Gesdhtsamt. Bd. 33. 1910.) — 105) Dies., Bakteriologische Untersuchung über die Mastitis acuta der Kühe. (Ebenda. Bd. 34. 1910.)

Nachdruck verboten.

Auffallend kurze Inkubationen bei menschlicher Wut.

[Aus der antirabischen Sektion des Pasteurinstitutes in Klausenburg (Cluj).]

Von Dr. **Daniel Konrádi,** Leiter der Abteilung.

Die Inkubation der menschlichen Wut variiert nach der Meinung aller Autoren zwischen 20—60 Tagen, Ferré nimmt sogar in seiner jetzt erschienenen Monographie einen Mittelwert von 40 Tagen an. Die unterste Grenze beträgt nach Ferré 15 Tage; auch diese kommt sehr selten vor, eine noch kürzere gehört zu den größten Seltenheiten. Kozewaloff beobachtete einmal bei einem 3jährigen Mädchen, das von einem Wolfe am Kopf und Gesicht stark verletzt worden war, eine 12tägige Inkubation, Högyes eine 13-, Pasteur eine 14-, Babes in 11 Fällen 14tägige Inkubation. In unserer Umgebung kommen aber derart kurze Inkubationen öfters vor, die sich von Jahr zu Jahr mehren. So kamen 1920 zwei 13- und eine 14tägige, 1921 ebenfalls zwei 13-, vier 14- und drei 15tägige vor, 1922 neben 8 derart kurzen hatten wir sogar zwei **12**tägige. Da die ersteren im Jahresbericht schon veröffentlicht wurden, soll jetzt nur von den zwei letzteren die Rede sein:

a) Eine 32-jähr. Magd wurde am 10. Okt. 1922 durch eine C.-Katze an der linken Hand verletzt. Die Verletzung bestand aus 3 oberflächlichen Kratzwunden. Sie erschien noch am selben Tage in der Sektion, aber ganz betrunken. Nach der Schutzimpfung wurde sie aufmerksam gemacht, sich des Alkohols zu enthalten, sie kam aber am nächsten Tage wieder berauscht zur Impfung, nach welcher sie wieder ermahnt wurde, den Alkohol zu vermeiden. Dies nutzte aber gar nichts, denn sie erschien am 3. Tage in demselben Zustande wieder. Die Aufklärung war ihr jetzt schon zuwider und sie meldete sich nicht weiter, obwohl ihr ausdrücklich auseinandergesetzt wurde, wie lange die Schutzimpfung dauert. Am 22. Okt. meldete sie sich bei einem hiesigen Arzt, der, ohne über die Anamnese aufgeklärt zu sein, keine sichere Diagnose sofort stellen konnte und des großen Fiebers wegen, sie auf die medizinische Klinik schickte. Sie wurde hier am 23. aufgenommen, wo sich dann die typischen Symptome der rasenden Wut entwickelten, an denen sie am 26. morgens 1 Uhr zugrunde ging. Die Sektion bestätigte die klinische Diagnose.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

b) Ein 10-jähr. Knabe wurde am 16. Nov. 1922 an beiden Schenkeln durch einen C.-Hund gebissen. Am 27. nachm. 5 Uhr ist er schon krank und erlag an paralytischer Wut den 2. Dez. während der Schutzimpfung.

Bei der pünktlichen Detailierung dieser Fälle ersehen wir, daß hier von einer derart kurzen Inkubation die Rede ist, die in der Weltliteratur bisher nur in 1 Falle vorgekommen ist, nämlich in dem von Kozewaloff. Die Verletzung erfolgte nämlich im 1. Falle am 10. Okt., was ganz sicher festgestellt werden konnte; am 22. Okt. war sie schon krank, was auch ganz sicher konstatiert wurde; dieser Tag zählt also nicht zur Inkubation, die vom 10.—21. inkl., d. h. **12 Tage** lang dauerte. Im 2. Falle beträgt sie kaum 12 Tage, denn am 12. Tage nachm. war das Kind schon krank[1]).

Es drängt sich die Frage auf: Was kann die Ursache dieser derart kurzen Inkubationen sein? Ich glaube, die Ursache in dem Umstande finden zu können, daß das Lyssavirus bei uns während der wiederholten Passagen von Hund zu Hund und durch andere Tiere (Katze, Fuchs, Rindvieh, Pferd, Schwein) in seiner Virulenz derart verstärkt wurde, daß daraus ein hypervirulentes Virus (virus renforcé) entstand, wie dies aus den Beobachtungen und Untersuchungen von D'Amato, Babes, Remlinger, Nocard, Marie bekannt ist, und daß diese Verstärkung nach Calabrese und Pampoukis noch schneller vor sich geht, wenn an der Passage auch Herbivoren teilnehmen, wie es auch bei uns der Fall war.

Ein derart starkes Virus kommt zum Glück in der Natur selten vor, bei uns ist es aber da, und gerade deshalb will ich die Aufmerksamkeit auf dasselbe lenken, da dies eine auffallend große praktische Bedeutung hat. Diese Fälle können nämlich durch die jetzt übliche Schutzimpfung nicht gerettet werden, wie dies auch Babes in seiner bekannten Monographie hervorhebt, ohne daß daran weder die Methode, noch derjenige, der sie appliziert, schuld wäre. Beim Vorkommen derart verstärkter Virulenz müssen energischste Maßregeln den Hunden gegenüber ergriffen und bei der Schutzimpfung der Gebissenen nach Methoden gesucht werden, durch die eine schnellere Immunisierung erlangt werden kann. Beides ist im Gange.

Die Gebissenen müssen sich aber auch des Alkohols enthalten, denn dieser vermindert die Widerstandsfähigkeit, auch müssen sich die Schutzgeimpften vor Erkältung und Traumen hüten, welche den Ausbruch der Wut erleichtern oder beschleunigen, wie dies aus den Beobachtungen und Untersuchungen von Chantemesse, Lemaistre, Pfister, Nocard, Babes, Kraiouchkine, Paltauf, Marx, Pampoukis, v. Székely, Delérade und neuestens von Ferré hervorgeht.

Literatur.

Babes, Traité de la Rage. p. 294/295 u. 598—600. — Koch, Josef, Lyssa und Ferré, La rage.

1) Es soll betont werden, daß beinahe in allen Fällen aus dem Gehirne der Verstorbenen subdurale Probeimpfungen an Kaninchen und Meerschweinchen vorgenommen wurden. Diese Tiere erlagen nach 18 - 22 Tagen der Wut.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-16 14:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Vorläufige Mitteilung über den Erreger der Tsutsugamushikrankheit.

[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten an der Universität zu Tokyo (Vorstand: Prof. Dr. M. Nagayo).]

Von Prof. Dr. **Kikutaro Ishiwara** und Prof. Dr. **Norio Ogata** (Chiba).

Mit 2 Tafeln.

I. Einleitung.

Ueber den Erreger dieser Krankheit besteht trotz der vielen und eifrigen Arbeit, die bei uns in Japan bis jetzt diesbezüglich geleistet worden ist, noch keine Klarheit.

Im Herbst 1919 fanden wir in 3 Fällen Lymphdrüsen, die unser verehrter Vorgänger in der Tsutsugamushiforschung, Prof. Dr. Masanori Ogata, aus den an dieser Krankheit Verstorbenen gewonnen hatte, durch spezifische Färbung zahlreiche, äußerst feine, runde Körperchen. Unseres Wissens ist ein solcher Befund über den Erreger dieser Krankheit noch nicht beschrieben worden. Bei weiterer Untersuchung fanden wir dieselben Körperchen nicht bloß in der Lymphdrüse, sondern auch in der Milz, dem Herzen und in der Stichstelle. Bei diesen Versuchen legten wir besonders großen Wert auf den Kontrollversuch, stellten daher zur Kontrolle Schnittpräparate aus der Lymphdrüse bei Pest, tuberkulöser Lymphadenitis, Milz beim Fleckfieber und aus mit Pockenvirus geimpften Kaninchenhoden her, fanden aber nichts Aehnliches. Wir suchten nun diese Körperchen im Tierversuch und in Kulturen nachzuweisen.

II. Experimente.

Die größten Schwierigkeiten, auf welche unsere Untersuchungen über den Erreger dieser Krankheit in den letzten Jahren stießen, beruhten darin, daß einerseits die zum Versuch geeigneten japanischen Affen uns nicht immer zur Verfügung standen und anderseits das Blut der kranken Menschen nur während der Akme, dem Höhepunkt der Erkrankung, sich für die Untersuchung eignet. Dennoch konnten wir unseren Zweck erreichen und die nachfolgenden Versuche ausführen:

Wir impften das durch Venenpunktion gewonnene Krankenblut subkutan weiblichen Affen ein, männlichen subkutan und auch in einen Hoden. Nach einigen Tagen fanden wir bei den beiden Affen Anschwellung der regionalen Lymphdrüsen und des geimpften Hodens. In derselben Weise haben wir auch Kaninchen und Meerschweinchen geimpft, konnten jedoch keinen ähnlichen Befund erheben.

1) Tierversuch und Kultur aus dem Krankenblut.

Datum	Name der Patienten	Mikroorganismenbefunde in den Affenorganen
1920	S. I.	Affe Nr. 3 in Lymphdrüse
1920	T. F.	„ „ 3 „ „
		„ „ 6 „ „ und Hoden
1921	N. K.	„ „ 11 „ „ „ „
		„ „ 13 „ „
	H. M.	„ „ 16 „ „ „ „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Datum	Name der Patienten	Kultur mit Krankenblut
1920	S. I.	I.—II. Generation
1920	T. F.	I. „
1921	N. K.	I. V. „

2) Kultur von erkrankten Affen.
1921 Kultur mit Lymphdrüsenstückchen und Herzblut vom Affen Nr. 13,
1921 Kultur mit Herzblut vom Affen Nr. 1.

3) Tierversuch mit Kultur.

1921 wurde dem Affen No. 12 die 2. Kultur aus N. K. Blut subkutan und in einen Hoden geimpft, wodurch dieser Hoden und die Lymphdrüsen anschwollen. Dabei fanden wir in beiden Schnitten die oben genannten Körperchen.

Was die Anschwellung des geimpften Hodens betrifft, so begann sie einige Tage nach der Impfung und schien 1—2 Wochen zu dauern. Diese Affinität zwischen dem Tsutsugamushivirus und dem Affenhoden wurde von uns zuerst konstatiert; 1920 injizierten wir 4 Affen in die Hoden; bei 3 von ihnen schwoll der Hoden an. Wir glauben, daß der einzige, bei dem keine Anschwellung gesehen wurde, ein immunisierter war, weil er schon zu Versuchen gedient hatte. 1921 impften wir ferner 5 Affen Krankenblut, bei 3 Affen Kultur in den Hoden, und beobachteten dabei bei allen Anschwellung des Hodens.

III. Eigenschaften der von uns gefundenen Körperchen.

1) Morphologie und Anordnung: Die Körperchen im Gewebe von Menschen sowie von Affen sind meistens kokkenartig, zuweilen diplokokkenförmig mit abgerundeten Enden. Seltener findet man hefeförmige, manchmal streptokokkenförmige Körperchen. Was die einzelnen Körperchen anbelangt, so spielen die ganz runden die Hauptrolle, während die ovalen und länglichen selten vorkommen. Bei den größeren zeigen sich intensiv gefärbte und oft runde oder ovale Teile. Diese Körperchen verteilen sich unzählbar in verschiedene Schichten in den Schnittpräparaten. Die in der Kultur entwickelten Körperchen sind als Grundform meistens ganz rund, zuweilen oval und eiförmig, in dem Anfangsstadium der Kultur meistens monokokkenförmig; im Verlaufe von Tagen oder durch Kulturgenerationen vermehren sich die Diplokokken- und Streptokokkenformen. Nur selten sahen wir die Hefeform.

2) Größe: Im Gewebe beträgt das Minimum der Größe dieser Körperchen 0,1—0,2 Mikron, das Maximum 2,15 Mikron. Nach der Größe unterscheiden wir kleine (0,2—0,1), mittlere (1,0—1,5) und große (1,5—2,15). Die kleinen und mittleren machen über $^2/_3$ der gesamten Zahl aus. Unter den in der Kultur entwickelten Körperchen sind 0,5—0,8 große am häufigsten.

3) Färbbarkeit: Die in der Kultur gezüchteten Körperchen sind ungefärbt stark lichtbrechend und mit Anilinfarbstoff leicht färbbar, sehr schwer aber im Gewebe. Das Untersuchungsmaterial, Gewebe und Organe, welches in Alkohol und Formalin aufbewahrt wurde, außer bei Giemsa-Färbung, wird in Stückchen gebeizt und gefärbt und dann mittels Gefriermikrotoms geschnitten. Als Beizmittel bedienten wir uns mit Vorliebe der Beize von Löffler, Imai-Hidaka und von Peppler. Als Farblösung benutzten wir Karbolfuchsin- und Gentianaviolettlösung. Nach diesen Methoden zeigen sich die Körperchen intensiv rot oder

Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

dunkelviolett. Wenn man mit der Methode von Giemsa und Heidenhain oder Delafield diese Körperchen färben will, muß man zuerst Gefrierschnitte herstellen und dann erst färben. Nach der ersteren färben sich die Körperchen rötlich violett, nach den letzteren dunkelbraun. Die Körperchen sind sehr deutlich wahrnehmbar, wenn Schnitt- wie Ausstrichspräparat, nachdem beide mit der Antiformin-Methode vorbehandelt worden sind, gefärbt werden. Bei den Körperchen im Gewebe sind intensiv gefärbte Teile sichtbar, wenn sie nach Giemsa gefärbt werden. Im Anfangsstadium der aus Patienten oder erkranktem Affen gezüchteten Kultur färben sie sich gleichmäßig, aber nicht mehr nach einiger Zeit oder bei Stämmen, die Generationen durchgemacht haben. Sie sind nach Gram negativ. Bewegung, Geißel, Kapsel und Sporen fehlen ihnen ganz; in Galle sind sie unlöslich.

4) Kulturelles Verhalten. Das in der Akme entnommene Krankenblut kann nicht auf gewöhnlichen Nährböden gezüchtet werden. Die genannten Körperchen gedeihen nur in Aszites- und aszitеshaltigen, flüssigen Nährböden. Das Blut kranker Affen wird durch Herzpunktion entnommen und gezüchtet.

Im Kulturversuch schenkten wir dem Loefflerschen Nährboden die größte Aufmerksamkeit, weil Prof. Nagayo und seine Mitarbeiter 1917 berichtet hatten, daß sie, nachdem sie das Virus in 14 Generationen auf Affen fortgezüchtet, aus dem Blute des letzterkrankten Tieres auf Loeffler-Serum einen Mikroorganismus züchten konnten, dem sie für die Aetiologie der Tsutsugamushierkrankung eine wesentliche Rolle zuschreiben. Wir prüften ihre Versuche nach, konnten aber nicht das gleiche Resultat wie sie erhalten. Wohl aber entwickelten sich unsere Mikroorganismen im Aszitesnährboden oder dann, wenn wir dem Nährboden im voraus Menschen- oder Kaninchenblut beimengten.

Bei der 1. Kultur traten nach einigen Tagen weder Trübung noch andere Veränderungen ein. Bei genauer Beobachtung waren am Boden feine Flöckchen sichtbar, in denen wir die genannten Körperchen nachwiesen. Doch können wir sie noch nicht auf festen Nährböden züchten. Das Temperaturoptimum für das Wachstum dieser Mikroorganismen ist 30—32° C; bei Bruttemperatur gedeihen sie nicht so gut. 1920 konnten wir Kulturen bis zur 2. Generation, 1921 aber mit Sicherheit bis zur 5. erzielen.

IV. Immunreaktion.

Wir stellten in diesem Jahre zum ersten Male mit diesen Körperchen als Antigen verschiedene Immunreaktionen an, wobei alles negativ ausfiel. Hinzuzufügen ist noch, daß wir auch die Weil-Felixsche Reaktion bei der Tsutsugamushikrankheit geprüft haben, weil Prof. Tanaka in den vergangenen Jahren als Erreger Proteus aus einer Tsutsugamushileiche isoliert hatte. Wir führten daher diese Reaktion mit Stamm X 19 und mit Kranken- und Affenserum aus, doch war jede Reaktion negativ.

V. Aetiologische Bedeutung der Körperchen und Zusammenfassung der Versuche.

Die Resultate der Versuche, welche wir in den letzten 2 Jahren angestellt haben, sind freilich nicht vollkommen und lassen noch viel

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

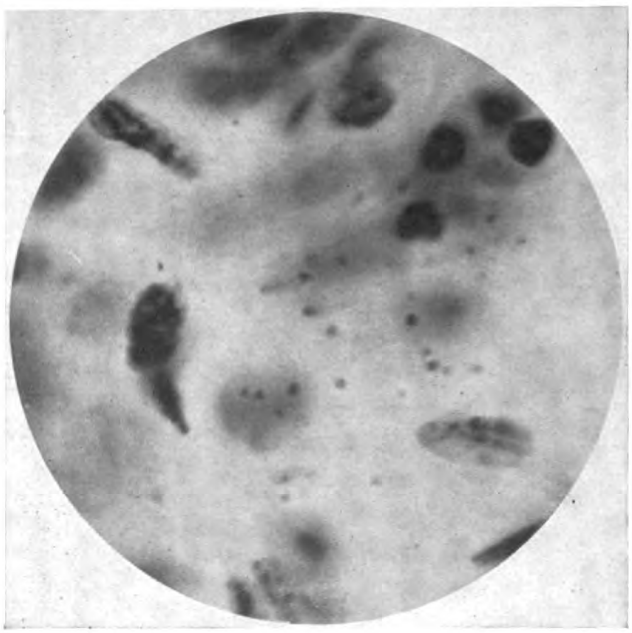


Fig. 2.

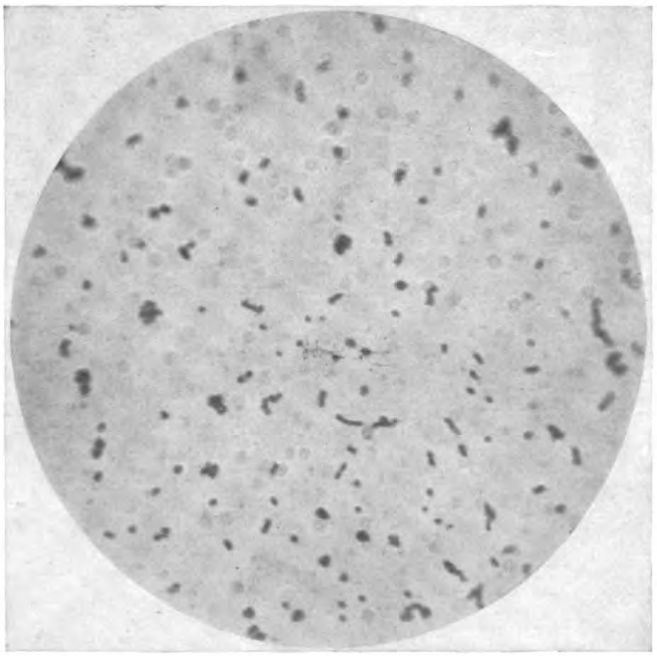


Fig. 3.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu wünschen übrig. Selbst die Immunreaktion fiel negativ aus. Wir würden daher zu weit gehen, wenn wir ohne weiteres behaupten wollten, daß unsere Körperchen Erreger dieser rätselhaften Krankheit seien.

Was wir aber behaupten können, ist kurz folgendes:

I. Wir beobachteten spezifische Körperchen in dem Leichenmaterial, worüber noch kein Forscher berichtet hat. — II. Im Affengewebe sind diese Körperchen nachweisbar, wenn das Krankenblut im Akmestadium auf Affen übertragen wird. — III. Aus Krankenblut im Akmestadium, ferner aus dem Blute erkrankter Affen und der Lymphdrüsen derselben sind diese Körperchen nur auf Aszitesnährböden züchtbar; morphologisch scheinen sie mit den im Gewebe nachgewiesenen übereinzustimmen. — IV. Bei 2 gesunden Affen, welchen diese Kultur subkutan und in den Hoden geimpft wurde, zeigte sich Anschwellung der Lymphdrüse und des Hodens mit Fieber. (Leukopenie trat nicht auf.) Die in diesen beiden Affen nachgewiesenen Körperchen stimmen mit den im Leichen- und Affenmaterial gefundenen überein. Das Tsutsugamushi-Virus ruft eine gewisse Reaktion im Hoden des Affen hervor. — V. Bei der Tsutsugamushi-Krankheit ist die Weil-Felixsche Reaktion negativ.

Vergleich unserer Versuche mit der Literatur.

I. Die von Prof. Tanaka beschriebenen Kokken sind grampositive Streptokokken und züchtbar auf Agarnährboden; unterscheiden sich daher von unseren Körperchen. — II. Die von Prof. Miyajima entdeckten Akamushi-Körperchen sind in Morphologie, Größe und Färbbarkeit von den unserigen verschieden. Wir können diese beiden aber nicht genau vergleichen, weil bei ihnen Tierversuch und pathologisch-histologische Untersuchung fehlen. — III. Die von Prof. Nagayo u. a. als Erreger angesehenen Körperchen sind meistens hefeförmig und wachsen auf Loefflerschem Nährboden, sonst sind sie aber den unserigen bis zu einem gewissen Grade ähnlich.

Was die Frage anbetrifft, zu welcher Gattung der Mikroben unsere Körperchen gehören, so können wir uns heute darüber noch nicht entscheiden.

Zum Schluß erlauben wir uns, die Manen Prof. Dr. Masanori Ogatas anzurufen, welcher seit über 10 Jahren mit dieser Arbeit sich sehr eifrig beschäftigt und sie bis zu seinem Tode verfolgt hat. Er gab uns noch einen Tag vor seinem Ableben, am 29. Juli 1920, herzlichste Anregung zur ernstlichen Fortsetzung dieser Forschungen. Es ist uns daher eine angenehme Pflicht, dieses unser Ergebnis in der von ihm begründeteten Gesellschaft zuerst veröffentlichen zu können[1]).

Tafelerklärung.

Tafel I.

Fig. 1. Lymphdrüsenschnitt von einem Tsutsugamushikranken (Suzuki). — Vorbehandlung: Drüsenstückchen in Pepplerscher Beizflüssigkeit. Färbung: Stückchen in Karbolgentianaviolett; dann geschnitten. Massenhafte, mikrokokkenartige Körperchen sichtbar.

Tafel II.

Fig. 2. Lymphdrüsenschnitt vom Versuchsaffen Nr. 12 (1921), welchem die 2. Generation der Aszitеskultur von Krankenblut (N. Katos 1921) subkutan injiziert war. Vorbehandlung: Stücken in Imai-Hidakascher Beizflüssigkeit. — Färbung: Stückchen in Karbolfuchsinlösung, dann geschnitten. — Mikroskopischer Befund wie Fig. 1.

Fig. 3. Reinkultur von Krankenblut; II. Generation von Aszitesflüssigkeit vom Blute Tsutsugamushikranker. N. Katos 1921. In Aszitеskultur die Kettenformen sichtbar. Alles sind Photographien.

1) Vorgetragen am 20. Nov. 1921 in der Versammlung der Japanischen Hygienischen Gesellschaft in Tokyo.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Beiträge zu einer Lebensgeschichte der Pferdebandwürmer.

Von Dr. **Rudolf Becker** in Uelzen (Hannover).

Ueber das Vorkommen von Bandwürmern in den Eingeweiden des Pferdes haben zuerst O. F. Müller, Abildgaard, Pallas, Goeze, Bremser u. a. berichtet. Seitdem ist mehr als ein Jahrhundert verflossen, im Verlaufe dessen zugleich mit dem weiteren Ausbau der mikrotechnischen Untersuchungsmethoden mehrfache anatomisch-histologische Bearbeitungen auch dieser Cestodengruppe der Anoplocephalidae erfolgten. Als Spezialforscher betätigten sich E. und R. Blanchard, Blumberg, Kahane, F. Zschokke, Lühe, Scheibel, L. Cohn; den Schlußstein legte Balß mit seinen Untersuchungen über die Entwicklung der Geschlechtsorgane von Anoplocephala magna (1908).

Meine Veröffentlichnngen in den letzten Jahren hatten eine doppelte Aufgabe zu erledigen gehofft: einmal eine nochmalige kritische Durcharbeitung dieses ganzen Wissenschatzes vorzunehmen, um die oftmals stark differierenden Angaben der Autoren über die einzelnen Arten miteinander und mit den allgemeinen Ergebnissen der Cestodenanatomie in Einklang zu bringen, andererseits aber auch die noch überall zahlreich vorhandenen Lücken in der Kenntnis der Pferdebandwürmer überhaupt nach Möglichkeit auszufüllen. Dabei bin ich nun leider allzu schnell bis an die Grenze der bisher berücksichtigten Beobachtungsmöglichkeiten gelangt.

Bau- und Lebensweise eines jeden Tieres bilden zusammen eine geschlossene, „funktionelle Einheit“ (v. Uexküll). Eine Betrachtung des Baues allein, ja selbst eine vergleichende Morphologie, bleibt ohne Feststellung der Biologie immer etwas Unvollkommenes und Halbes. Demnach erfordern beide Disziplinen auch hier eine gleichmäßige Berücksichtigung. Bislang sind jedoch alle Versuche, etwas Genaueres über die Lebens- und Entwicklungsgeschichte dieser wichtigen Parasitengattung zu erfahren, ohne jeglichen Erfolg geblieben. Jedesmal, wenn man ihr auf der Spur zu sein glaubte, erwiesen sich die erwarteten Ergebnisse hinterher als eine Täuschung. Auch heute noch muß man wohl oder übel bekennen: wir wissen über die Entwicklung dieser Tiere absolut gar nichts.

Und dennoch steht die wissenschaftliche Bedeutung dieser Frage ganz außer Zweifel. Vor einigen Jahren gedachte mein inzwischen verstorbener Lehrer J. W. Spengel, das Problem als akademische Preisfrage in Fluß zu bringen, nahm aber davon Abstand, als ich ihm die Aussichtslosigkeit klarlegte, in dem kurzen dafür vorgeschriebenen Zeitraume eines einzigen Jahres genügend Material für eine ziemlich lückenlose Bearbeitung sammeln und damit zugleich ein sicheres, abgeschlossenes Resultat erzielen zu können. Ein Preis von 1000 M. wäre sicherlich schon damals für eine solche Lösung angemessen gewesen, zumal wenn man an ihre praktischen Folgen denkt.

Natürlich handelt es sich hier nicht um die Klärung einer „brennenden Tagesfrage“, dazu sind diese Cestoden in unseren Breiten nur selten einmal in gefahrbringendem Maße anzutreffen, aber es würden sich auf diese Weise zumindest Richtlinien für die zweckmäßigste Bekämpfung bzw. Verhütung solcher Parasiteninvasionen er-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

geben, wie sie in der kasuistischen Literatur mehrfach beschrieben wurden, oder wie sie in ihren häufigsten Folgeerscheinungen — genau so wie Gastrophilus-Larven (Seyderhelm), Ascariden und Sclerostomen (M. Ziegler, Deutsch. Tierärztliche Wochenschr. 1922. Nr. 25) — immerhin einigen Verdacht auf das Vorhandensein einer „infektiösen Anämie" erwecken können.

Noch in anderer Hinsicht hätte ein allzu langer Aufschub erneuter Untersuchungen seine Bedenken. Bekanntlich sind die meisten Parasitenkrankheiten „Weidekrankheiten", so auch die Taeniasis. Es verringern sich nun im gleichen Maße mit dem allmählichen Fortschreiten der Kultur, dem Uebergang zu reiner Stallfütterung der Haustiere mit modernen, fabrikmäßig hergestellten Futtermitteln und der Umwandlung der natürlichen Wiesen und Weideplätze in Kulturland die Möglichkeiten für eine tiefgründige und dennoch bequem durchführbare Naturbetrachtung, hier also für die Klarlegung einer wichtigen ätiologischen Frage. Ist es doch längst bekannt und immer wieder neu bestätigt worden, daß speziell die Pferdebandwürmer in Westeuropa viel seltener vorkommen als im weniger kultivierten Osten, wo der Schwerpunkt der Tierhaltung auf extensiver Weidewirtschaft ruht und künstliche Düngung, Drainage und andere Arten der Bodenpflege einer natürlichen Flora und Fauna noch keinen merklichen Abbruch getan haben. Bemerkenswert ist ferner die Tatsache, daß man die gleichen Bandwürmer wie beim Pferde auch bei seinen wilden und halbwilden Verwandten, Zebra, Esel und Maultier, angetroffen hat. Der gewöhnliche Ort der Infektion ist demnach auf alle Fälle in der freien Natur zu suchen.

Mit den folgenden Gedankengängen will ich mich nicht vermessen, irgendwelchen positiven Fortschritt in dieser Frage geliefert zu haben, vielmehr sollen diese Ueberlegungen weiter nichts als Wegweiser sein, um mit ihrer Hilfe der Lösung des Problems ein wenig näher zu kommen. Vielleicht lassen sich durch derartige Anregungen gleichzeitig noch andere, nicht unmittelbar im Rahmen der erwünschten Untersuchungen liegende, jedoch ebenso wertvolle Ergebnisse gewinnen. Nur in biologischer Hinsicht glaube ich einige neue Gesichtspunkte entdeckt zu haben, welche beweisen, wie genau dem besonderen Bau der Pferdebandwürmer ihre Lebensweise entspricht.

Untersuchungsmethoden.

Drei Wege erscheinen mir gangbar zu unserem Ziele, und zwar sind es für die biologische Forschung keine neuen; auch die Parasitologie hat stets mit ihrer Hilfe fortzuschreiten gesucht. Aber auf dem zu behandelnden Gebiete — Erforschung der Lebensgeschichte der Pferdebandwürmer — sind sie bisher gänzlich unbeachtet geblieben. Experimentelle Folgerungen wie statistische Erhebungen liefern immer bestimmte positive oder negative Tatsachen und Beziehungen, während aus der deduktiven Arbeit der Analogieschlüsse nur mehr Wahrscheinlichkeiten verschiedenen Grades entspringen.

Das Experiment ist eine Frage an die Natur, welche sich beliebig oft wiederholen und damit zugleich jederzeit leicht nachkontrollieren läßt. Zunächst hat man also möglichst natürliche Bedingungen auszuwählen, von denen man ausgehen will. Ihre Kenntnis erlangt man nur mittels Erfahrung, d. h. durch eine längere Zeit fortgesetzte, planmäßige Beobachtung. Diese steht in gewissem Gegensatz zu den nur

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gelegentlichen Einzelbefunden der Kasuistik, welche als Fragmente bzw. Gelegenheitsbeobachtungen nur bedingten Wert haben gegenüber den wertvollen Früchten einer planmäßigen Untersuchung.

Die Statistik andererseits besteht in genauen zahlenmäßigen Angaben, wodurch es möglich wird, Gewöhnliches vom Außergewöhnlichen oder Gelegentlichen scharf zu sondern und brauchbare Durchschnittswerte zu ermitteln.

Bekanntlich nahm die Helminthologie in der Mitte des vorigen Jahrhunderts ihren gewaltigen Aufschwung infolge der klassischen Experimente Küchenmeisters (1852), als es diesem gelang, durch Verfütterung von reifen Bandwurmgliedern Finnen zu erzeugen und aus diesen wiederum fertige Bandwürmer zu züchten, hiermit also den ganzen Zyklus der Lebensgeschichte für einige wichtige Cestoden festzulegen. Diese experimentellen Erfolge ermunterten natürlich zu weiterer intensiver Arbeit auf diesem Gebiete der Wissenschaft, so daß bald für viele Entoparasiten des Menschen und seiner Nutztiere die Entwicklungsweise in Wirten und Zwischenwirten klargestellt war. Merkwürdig bleibt jedoch die Tatsache, daß man damals schon keinem einzigen der so zahlreichen Pflanzenfressercestoden hat nachspüren können.

An eine Autoinfektion ist in diesem Falle selbstverständlich nicht zu denken, sonst müßten die Därme der Weidetiere stets geradezu von diesen Würmern wimmeln. Eine solche wird auch noch auf andere Weise unmöglich gemacht. Bekannt ist ja die große Abneigung der Tiere gegenüber dem Kot der eigenen Art und dem dort üppig sprießenden Gras, während die Ausscheidungen anderer Tierarten nicht gemieden werden. Somit wird man sich z. B. von systematischen Fütterungsexperimenten bei Pferden, Rindern und Schafen mit reifen Wurmgliedern der Gattungen Anoplocephala und Moniezia von vornherein kaum einen Erfolg versprechen dürfen, auch dann nicht, wenn man unter Berücksichtigung ihres oft gemeinsamen Weidens oder wenigstens der Benutzung gemeinsamer Weideplätze („Mutualismus") einen gegenseitigen Wirtswechsel der Parasiten in Betracht zieht und Anoplocephala-Embryonen an Wiederkäuer, solche von Moniezia an Pferde verfüttert. Immerhin wären solche, zwar negativen Ergebnisse wertvoll genug, wenn sie mit der erforderlichen Sorgfalt hinsichtlich der Behandlung des Materials wie der Versuchstiere mehrfach erzielt würden. Zweckmäßiger möchte es mir allerdings erscheinen, wenn man die Infektionsversuche an wurmfreien Schlachtpferden bis auf einen Zeitpunkt verschiebt, wo man bereits genügend Unterlagen für eine mutmaßliche Beziehung zu einer bestimmten Zwischenform der in Frage kommenden Schmarotzer bzw. diese selbst in Händen hat. Alsdann ist freilich ein solches „Fundamentalexperiment" imstande, die große Lücke in unserem Wissen mit einem Schlage auszufüllen.

Ebenfalls negativen Ausfall lassen Versuche in vitro erwarten, welche dem Verhalten der dickbeschalten Embryonen in saurer oder alkalischer, dem Magen- bzw. Darmsaft isotonischer Ringerlösung nachgehen wollen.

Die starken Schutzeinrichtungen der Keime gegenüber chemischen Einflüssen sowie gegen Trockenheit und Winterkälte weisen eher auf die Fähigkeit für ein längeres Verweilen im Ruhestadium hin, ob im Freien oder im Darmkanal eines Tieres mit geringer Verdauungskraft (Kaltblüter) bleibe noch dahingestellt. Gelegentliche Beobach-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tungen reichen zur Entscheidung solcher Fragen nicht aus; es gilt eben auch hierüber planmäßige Erhebungen anzustellen.

Bislang ist man eigentlich nur durch Sektionsbefunde auf das Vorhandensein von Bandwürmern aufmerksam geworden; ein ziemlich dürftiges Zahlenmaterial hierüber liegt bereits vor (vgl. meine Ausführungen (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. 1920. Nr. 20): Durch klinische Untersuchung hingegen sind Bandwürmer bei Pferden immer sehr schwer festzustellen gewesen, denn ganze, unverdaute Proglottiden dürften sich unter sonst normalen Verhältnissen in Anbetracht des langen Darmweges wohl kaum mehr im Mastdarm oder im Kote vorfinden. Erst die neueren Anreicherungsmethoden von Telemann, Kofoid und Barber, Pataki, Schuchmann (vgl. Berlin. Tierärztl. Wochenschr. 1922. Nr. 31) u. a. ermöglichen einen ziemlich leichten Nachweis von Parasiteneiern im Kote, so daß sich damit die Verbreitung der verschiedenen Arten genauer angeben läßt.

Ein weiteres wichtiges Hilfsmittel zur Feststellung von Bandwürmern bildet das Gebiet der Fleischbeschau, welches in dieser Hinsicht ausschließlich Fachleuten vorbehalten ist. Aber wer hat wohl schon bei dieser Gelegenheit des öfteren Pferdetänien angetroffen? Ich vermute, die allerwenigsten Kollegen, und doch dürfte dieser Umstand nicht so sehr auf die relative Seltenheit der Schmarotzer zurückzuführen sein, als darauf, daß man dem Darmkanal und seinem Inhalte meist keine allzu große Beachtung zu schenken pflegt. Sollen aber wirklich systematische Untersuchungen über das Vorkommen der Bandwürmer angestellt werden, so hat sich das Hauptaugenmerk des Beobachters auf den Inhalt des Dünndarmes und Magens zu richten. Ich habe schon früher (a. a. O.) darauf hingewiesen, daß der Anfangsteil des Zwölffingerdarmes besonders häufig Sitz dieser Tiere ist, während der Magen wohl erst postmortal von ihnen aufgesucht wird. Um die Technik der Untersuchung zu erleichtern, erscheint es somit zweckmäßig, bei der Exenteration vorerst diese Abschnitte des Digestionsapparates durch Abbinden (doppelte Unterbindung) zu isolieren.

In jedem einzelnen Falle sind bei parasitologischen Untersuchungen noch eine ganze Anzahl von Gesichtspunkten zu beachten. Es gilt nicht allein, Anzahl, Größe und Form sowie etwaige Abweichungen davon (z. B. Mißbildungen) zu erkennen, vielmehr ist dem genauen Wohnsitz des Parasiten, der Häufigkeit seines Vorkommens überhaupt und in bezug auf die augenblickliche Jahreszeit, dem bisherigen Aufenthaltsort des Wirtstieres, seinen Ernährungs- und Gesundheitszustand vollste Beachtung zu schenken, auch ist manchmal eine sorgfältige Blutuntersuchung zu empfehlen.

Günstige Aussichten für eine reichere Materialausbeute bieten vor allem die östlichen deutschen Provinzen, deren wirtschaftliche Verhältnisse mit ihrer bodenständigen Pferdezucht den benachbarten litauischen am ähnlichsten sind, wo ich während des Krieges die kleinste Bandwurmart, Anoplocephala mamillana, recht häufig antraf. Aus Suwalki berichtet Larisch (1917) ebenfalls über zahlreiche Fälle von Taeniasis. Auch anderswo scheinen diese Bandwürmer seit dem Kriege häufiger aufzutreten (eigene Beobachtungen). In Bayern (Augsburg) hat Stroh[1]) während der Jahre 1914—1918 unter 2000 Schlacht-

1) Ausführl. Bericht erscheint demnächst in: Zeitschr. f. Infektionskrankh., paras. Krankh. u. Hyg. d. Haust. Bd. 24. 1923. H. 2.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

pferden 56 Proz. Bandwurmträger ermitteln können. Wo also in den genannten Gebieten ein größerer Anfall von Notschlachtungen bzw. Sektionen bei Mutterstuten und Weidefohlen statthat, da besteht zugleich die Möglichkeit, ohne besondere Mühe derartige Erhebungen anzustellen. Diese hätten sich tunlichst über den Zeitraum eines ganzen Jahres zu erstrecken, wenn auch die Weidezeit in jeder Hinsicht ein reichlicheres, bei Schlachtungen oder Wurmkuren anfallendes, manchmal gar für Experimente geeignetes Material, die kalte Jahreszeit vielleicht gar keins liefern wird.

Entwicklung.

Gilt es demnach in erster Linie das Verhalten der Bandwürmer in ihrem eigentlichen Wirte, im Pferde, zu erforschen, so bildet einen weiteren wichtigen Punkt des Forschungsprogramms die schwierige Aufgabe, nach einem Zwischenwirte auszuschauen und hiermit in Zusammenhang die ganze Entwicklungsgeschichte dieser Tiere klarzustellen.

Auch die Cestoden der Herbivoren müssen offenbar ihre Jugendzeit in anderen Tieren verbringen, welche natürlich die gleiche Lokalität wie ihre eigentlichen Wirte bewohnen, sonst wäre ihnen keine Gelegenheit zur Infektion gegeben. Diesbezügliche Nachforschungen haben somit nur Aussicht auf Erfolg in Gegenden oder eng begrenzten Weidebezirken, deren Pferdebestand die Schmarotzer nachweislich beherbergt. Mit den im Kote ausgeschiedenen Eiern könnte sich eine große Anzahl verschiedener Tiergruppen infizieren: einmal die schon erwähnten sonstigen Benutzer der Weide (Wiederkäuer), sodann auch verschiedene Vogelarten, welche den Pferdekot nach unverdauten Körnern usw., oder nach dort häufig vorkommenden Insekten und ihrer Brut absuchen, und schließlich das Gros der Koprophagen selbst. Dabei denke man vor allem an die Mistkäfer (Geotrupes) und an die sogenannten Totengräberarten (Necrophorus), aber auch Heuschrecken (Acridier), Ohrwürmer (Forficula) u. a. dürften eher Gelegenheit zur Aufnahme von Bandwurmembryonen haben, als z. B. die Larven des Maikäfers, in denen man sie wohl vermutet hat. Es fragt sich nur, ob im Darme solcher Wirbelloser eine Weiterentwicklung der Wurmeier möglich ist, was immerhin auf experimentellem Wege leicht nachzuprüfen wäre.

Vielleicht führt jedoch die junge Wurmbrut, nachdem sie durch den Wind oder durch Regen- und Schneewasser herzugetragen wurde, zunächst ein freies Wanderleben als schwimmende Flimmerlarve, wofür die auf Weideplätzen stets vorkommenden flachen Tümpel und Gräben, welche nur im Hochsommer austrocknen, das geeignete Element abgeben würden. Diese beherbergen übrigens eine gut bekannte, fast kosmopolitische Fauna (vgl. A. Brauer, Die Süßwasserfauna Deutschlands. 1909), so daß ein Kenner derselben solche ungewöhnlichen Befunde auf den „verdächtigen“ Plätzen unschwer herausfinden würde. Neben der Beobachtung der Tierwelt, welche Nahrung und Wohnung in den Anhäufungen des Pferdekotes findet, bildet also die Durchforschung dieser Wasseransammlungen auf Weiden ein weiteres Feld planmäßigen Suchens.

Ob nun eine direkte Weiterentwicklung der entleerten Embryonen in einem solchen Element überhaupt möglich ist, darüber vermögen schon einfache Züchtungsversuche in einem Mikroaquarium oder einer „feuchten Kammer“ eine Entscheidung zu bringen. Möglicherweise

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stellt eine derartige im Wasser lebende Form auch nur eine Zwischenstufe dar, welche schließlich durch einen Zufall beim Trinken oder beim Grasen an den Rändern der Gewässer in den Verdauungskanal des Pferdes gelangt. Dies sind natürlich alles bloß Vermutungen, aus denen erst mehrfache, zuverlässige Beobachtung von Tatsachen Gewißheiten machen könnte. Ehe diese vorhanden sind, bleibt nichts anderes übrig, als sich durch Heranziehung von Analogien über alle Möglichkeiten des Entwicklungszyklus zu orientieren.

Wir wissen nun, daß sich bei der großen Mehrzahl der Säugetiercestoden der Embryo nach einer aktiven oder passiven Wanderung in den peripheren Organen (nicht im Darm) seines Zwischenwirtes zur Larve entwickelt, und daß diese später meistens rein passiv mit der Nahrung in den definitiven Träger gelangt. Doch gibt es andererseits Fälle, wo die Larve selbsttätig wandert (Bothriocephalus). Allerdings sind letzteres primitivere Formen, zu denen die Anoplocephaliden keineswegs gehören, wie ich an der Hand ihres Skolexbaues eingehend nachweisen konnte. Eine doppelte Wanderung ist natürlich immer notwendig, weil das Ruhestadium nach der ersten Wanderung (meistens in wirbellose Tiere) noch kein fertiges Tier liefert. Ein Wirtswechsel hat zu erfolgen, damit die Schutzhülle der Larve bzw. ihre Schwanzblase vom Magensaft des letzten Wirtes gelöst wird und das Individuum sich im nährstoffreichen Dünndarm fertig ausbilden kann, wohin es nach Befreiung von den Larvenorganen sogleich übertritt.

Das Leben eines jeden Bandwurmes zerfällt in 3 Abschnitte: Die Embryonalzeit, das Zwischenstadium der Larve und das geschlechtsreife Tier. Wenn wir auch den Werdegang eines solchen Tieres in diesem Falle noch nicht zu überschauen vermögen, so erscheint es doch von Nutzen, vorerst einmal alle einzelnen Situationen seiner Existenz als Schmarotzer zu verfolgen, soweit sie bis jetzt bekannt sind oder sich aus dem Bauplan des Individuums ohne weiteres herleiten lassen.

Fortpflanzung.

Der Beginn eines neuen Entwicklungszyklus datiert jeweils von dem Zeitpunkte der Geschlechtsreife, wo die Eizellen erzeugt, befruchtet und schließlich aus ihren Behältern, Uterus und Proglottiden, entleert werden. Ob sie sich dann jemals zu fertigen Bandwürmern entwickeln werden, das hängt freilich in hohem Maße vom Zufall ab.

Schon recht früh ist den Helminthologen die enorme Fruchtbarkeit der Cestoden aufgefallen, die noch auf alle mögliche Weise gesteigert werden kann. Man hat diesen Umstand als eine unmittelbare Folge des Kampfes ums Dasein gedeutet (vgl. J. W. Spengel, Die Monozootie der Cestoden. 1905). Tatsächlich sind die Schwierigkeiten für die Erhaltung der Art sehr bedeutend und werden, wie ich oben zeigte, täglich noch größer, so daß sich Vernichtungs- und Vermehrungsziffer eben kaum noch die Wage halten können. Ein begünstigendes Moment bildet bei den Pferdebandwürmern ihre Frühreife. Schon ganz dicht hinter dem Skolex beginnt die Entwicklung der Genitalien und durchläuft sehr schnell ihre Stadien bis zur Geschlechtsreife, so daß bei Anoplocephala mamillana schon im 11.—12. Gliede fertige Eizellen angetroffen werden (bei A. perfoliata etwa im 20. Gliede, bei A. magna im 100.—120. Gliede). Gerade wegen dieses schnellen Wachstums ist, wie Schaefer mit Recht hervorhebt, das Studium der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Entwicklung der Genitalien bei dieser Cestodengruppe (Balß) weniger geeignet zur Herleitung allgemeingültiger Entwicklungsregeln als dasjenige anderer Gruppen, welche mehr Zwischenstufen zwischen der 1. Anlage und dem vollständig ausgebildeten Geschlechtsapparat erkennen lassen.

Nun ist aber eine wechselseitige Begattung der geschlechtsreifen Glieder zweier Individuen häufig ganz ausgeschlossen, wenn nämlich nur wenige oder gar ein einziges Exemplar im Darmkanal vorkommt. Für ein jedesmaliges aktives Aufsuchen zu diesem Zwecke fehlen dem Tiere zudem jegliche feineren Sinnesorgane, ein solches würde obendrein noch eine starke Konkurrenz in der Ernährung herbeiführen. Andererseits würde durch Annahme einer einfachen Parthenogenese die ganze Kompliziertheit des zwittrigen Genitalapparats völlig zwecklos erscheinen. Wie ich es für Anoplocephala mamillana eingehend geschildert habe, findet hier eine sogenannte Selbstbegattung statt, derart daß jedes Glied durch das vorangehende, etwas jüngere begattet wird (Protandrie). Am 10. oder 11. Gliede erscheint zwischen den aufgewölbten Rändern des Porus genitalis zuerst ein fadenförmiger Cirrus, dem allmählich der ganze distale Abschnitt des Cirrusbeutels nachfolgt. Dieser beschreibt mit seiner hakenbesetzten Spitze einen Halbkreis nach rückwärts, bis er Porus und Vagina des nächstfolgenden, etwas älteren Gliedes erreicht hat und hier eindringen kann.

In Zusammenhang mit diesem Begattungsmodus steht einerseits die konstante Lage sämtlicher Genitalöffnungen an ein und demselben Rande, dem linken oder Genitalrande, andererseits die Kürze der Glieder bei den Anoplocephala-Arten gegenüber den echten Täniiden. Um dennoch genügend Platz zu haben für die Unmenge der gebildeten Eier, ist eine beträchtliche Ausdehnung im Breitendurchmesser der Proglottis erfolgt, so daß diese in den kurzen, unverzweigten Parallelschläuchen des quergelagerten Uterus angehäuft liegen können, was wiederum ein wichtiges Charakteristikum der Gattung Anoplocephala darstellt.

Jede der drei Arten hat außerdem ihre Besonderheiten im Bau aufzuweisen. Die Anzahl der Glieder ist bei Anoplocephala magna recht erheblich (500—1000); bei A. perfoliata ist sie geringer (70—150). dafür ist hier auffallend, daß die ausgewachsenen Proglottiden streckenweise völlig steril bleiben, daß also gewissermaßen nur eine periodische Ausbildung von Geschlechtsprodukten erfolgt. Im gleichen Maße geht offenbar die Abstoßung der reifen Glieder nicht einzeln, sondern portionsweise von statten. A. mamillana endlich hat nur wenige (30—50) Proglottiden, von denen die letzten sehr stark mit Eiern gefüllt sind, so daß hier zuletzt Muskeln und Nerven degenerieren, also keine aktiven Fortbewegungen der Bruchstücke denkbar sind. Die einzelnen Glieder bekommen zahlreiche Längsrisse und entlassen daraus ihren Inhalt, die Embryonen.

Hinsichtlich ihres Vorkommens ist auffallend, daß die letztgenannte Art entweder in sehr großer Anzahl oder doch bei fast jedem Weidetiere in 10—20 gleichgroßen Exemplaren (eigene Beobachtung) angetroffen wird. Vielleicht läßt sich dies so deuten, daß analog dem Verhalten von Taenia coenurus und T. echinococcus eine vegetative Vermehrung im Larvenzustande hinzukommt, eine Vermutung, welche mir vor längerer Zeit Prof. Dr. Demoll (München) mitteilte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eine systematisch wichtige Eigenschaft haben die Eier der Anoplocephaliden. Sie sind durch drei feste Embryonalhäute gegen schädliche Einflüsse der Witterung, insbesondere Trockenheit und Kälte, gut geschützt, ob sie auch der verhältnismäßig geringen Verdauungskraft der Kaltblüter gegenüber genügend Widerstand leisten können, bedarf zwar noch experimenteller Beweisführung. Wie Leuckart zeigte, können z. B. Frösche, Asseln, Tausendfüßler, Mehlwürmer die Schalen mancher Tänieneier nicht auflösen, andererseits steht jedoch fest, daß gerade die Mehrzahl der eingekapselten Cestodenlarven („Finnen"), besonders solche der Vögel, in wirbellosen Tieren vorkommt. Die innerste Eischale stellt den sogenannten „birnförmigen Apparat" der Autoren dar, sie ist besonders solide gebaut und läuft nach einer Seite zu in zwei feine, bei den einzelnen Arten verschieden lange Spitzen aus, die vielleicht zum Anheften des Embryo an der Magenschleimhaut des 1. Wirtes dienen, nachdem der saure Magensaft die beiden äußeren Hüllen aufgelöst hat. Natürlich kann dieser Abschnitt des Verdauungsapparates nur ganz vorübergehend Aufenthaltsort der schon ziemlich weit entwickelten Embryonen sein. Zu längerem Festklammern besitzen diese, ebenso wie die übrigen Tänien, 6 Embryonalhäkchen an dem einen Körperpol, welche erst mit der Umbildung zur Finne gänzlich verschwinden werden. Ob aber ein solcher Zustand von dem jungen Lebewesen überhaupt erreicht wird, das hängt von mancherlei Umständen ab, insbesondere von der Art des Zwischenwirtes, dem Alter bzw. der Zartheit seiner Gewebe u. dgl. mehr. Nicht in allen Fällen einer sogenannten „Verirrung" werden die Embryonen wieder mit dem Kote ins Freie entleert, vielfach gehen sie auf ihren Wanderungen in einem falschen Wirte zugrunde, wobei bindegewebige Narben und Schwielen, manchmal auch Verkalkungen in den Organen (Herz, Leber, Lungen usw.) zurückbleiben.

Die von mir im Felde in den Monaten Mai bis Juli 1916 beobachteten Fälle weisen darauf hin, daß die Infektion der Pferde sehr wahrscheinlich im zeitigen Frühjahr erfolgt, wenn die Grasnarbe noch spärlich und der Wasserstand auf den Weideplätzen noch ein ziemlich hoher ist. Am häufigsten waren damals die einheimischen, sogenannten Panjepferde von Bandwürmern befallen, was wohl in Zusammenhang stehen könnte mit ihrer Eigenart, die Grasfläche stets sehr gründlich abzuweiden, ehe sie sich weiterbewegen. Eine direkte Aufnahme der Finnen zugleich mit ihren Zwischenwirten ist allerdings kaum denkbar, einmal weil mittels der feinfühligen Lippen eine sorgfältige Auswahl des Futters erfolgt, andererseits eine durchweg sehr gründliche Kauarbeit der Zähne alles vernichten würde. Für eine Vermittlerrolle des Trinkwassers spricht das nicht seltene Vorkommen vieler Bandwürmer bei Saugfohlen, die mit auf die Weide gehen.

Im allgemeinen stehen die Bandwurmexemplare eines jeden Befundes auf genau gleicher Entwicklungsstufe, sind also gleichaltrig und stammen aus der nämlichen Infektionsquelle, jedoch waren in einem Sonderfalle zugleich einzelne kaum entwickelte Tiere vorhanden, offenbar Jugendformen, welche einer nochmaligen Infektion ihre Entstehung verdanken. Die weitere sorgfältige Beobachtung solcher Formen, die durch ihre geringe Größe und das spitz zulaufende Hinterende auffallen, erscheint durchaus wünschenswert. Nur auf diesem Wege wird man die Gestalt der jungen Bandwürmer allmählich bis zu jener ersten Stufe zurückverfolgen können, wo sich diese eben erst aus der Larvenhülle

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Finne befreit haben und sodann in den Darmkanal des Pferdes gelangt sind. Bei dieser Gelegenheit möchte ich bemerken, daß schon in einem Falle eingekapselte Finnen (Cysticerken) unbekannter Herkunft im Mageninhalt eines Pferdes vorgefunden wurden, leider fehlt jedoch eine genauere Beschreibung (Krause-Belgrad, zit. nach Leuckart).

Besondere Beachtung verdient eine weitere wichtige Tatsache. Das ist die mehrfache Feststellung von 2 oder gar aller 3 Bandwurmarten im gleichen Wirtstier. Dies deutet jedenfalls darauf hin, daß für alle 3 Arten ein und dieselbe Ansteckungsquelle als Aufenthaltsort bzw. Zwischenwirt in Frage kommen muß.

Bewegung und Empfindung.

Normalerweise sucht die freigewordene Larve sogleich durch eine kurze, wahrscheinlich aktiv mittels der Körpermuskulatur erfolgenden Wanderung den eigentlichen Wohnort des Wurmes, den Anfangsteil des Duodenums auf. Hier erfolgt dann die endgültige Anheftung des würfel- oder pyramidenförmigen Skolex mit seinen 4 ziemlich kräftig ausgebildeten Saugorganen an der Darmschleimhaut. Wie fest die Saugnäpfe sich an den Darmzotten festhalten, davon zeugen die beträchtlichen Epithelreste derselben in den Schnittpräparaten, es erfolgt also nicht bloß ein Ansaugen an die Innenfläche des Darmes nach Art eines „Schröpfkopfes", sondern vielmehr ein Festklammern mittels sogenannter „Sperrmuskeln". Durch den Berührungsreiz legt sich die Schleimhaut in Falten um diesen Teil des Bandwurmes eng herum, wodurch die Befestigung noch inniger wird, während der übrige Teil, die Strobila, frei in das Darmlumen hineinragt. Ein Hakenkranz fehlt dem Skolex, ist aber sicherlich bei den Stammformen der Anoplocephaliden noch vorhanden gewesen, denn es sind z. B. bei A. magna noch deutliche Reste eines Rostellums, d. h. eines Hakenpolsters nachweisbar, welche sowohl zur Insertion der komplizierten Skolexmuskulatur als auch zum Schutze der nervösen Zentralorgane dienen.

Eine dichte Muskelhülle bildet den Mantel um die inneren Organe und verleiht zugleich dem Tiere seine im Leben vielfach wechselnde Form, je nachdem sich die ununterbrochen von vorn nach hinten laufenden Längsmuskeln oder die weiter einwärts liegenden Transversalmuskeln der dorsalen bzw. ventralen Körperfläche in stärkerem Maße kontrahieren oder erschlaffen. Alle Maßangaben haben aus diesem Grunde immer nur einen relativen Wert. So erklärt sich auch die besonders bei A. perfoliata beobachtete Vielgestaltigkeit der Proglottiden, welche sich eigentlich auf nur 4 morphologische Grundtypen zurückführen läßt. Die letzteren sind dann weiter nichts als der Ausdruck der verschiedenen Entwicklungsstufen ihrer Geschlechtsorgane. Selbst der Skolex erleidet durch den Einfluß seiner Muskulatur mannigfache Gestaltsänderungen, wobei sich auch die Richtung der Saugnäpfe ändern kann. Dies kann so weit gehen, daß man manchmal versucht wird, das Vorliegen neuer Arten bzw. Varietäten zu vermuten, wo lediglich durch einseitige oder übermäßige Muskelwirkung bedingte Formabweichungen vorliegen. Hierfür ein Beispiel: bei A. mamillana pflegt der Skolex ohne deutlichen Halsabschnitt unmittelbar den ersten Gliedern aufzusitzen, welche ihn an seiner Basis halbkreisförmig umgeben. Nicht ganz selten sind jedoch die ersten 5 oder 6 Glieder schmal und durchaus gerade, so daß der Kopf frei darüber hervorragt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und langgestreckt erscheint. Erst durch genauen anatomisch-histologischen Vergleich und Auffinden von Zwischenstadien ist es mir einwandfrei gelungen, die Identität beider Formen festzustellen, welche man zunächst für zwei verschiedene Arten gehalten hatte.

Als physiologische Hauptaufgabe haben die Längs- und Quermuskeln als die bei weitem kräftigsten Muskelgruppen des ganzen Körpers die Fortbewegung des Bandwurmes zu bewirken. Auf welche Art und Weise diese vor sich geht, darüber liegen bis jetzt keine genaueren Aufzeichnungen vor, nur Blumberg schildert das lebhafte Muskelspiel seiner Exemplare, die er in Wasser von 30° C gebracht hatte, wo sie sich bis zur dreifachen Länge ausdehnten und eigenartige Bewegungen mit dem Skolex und den Saugnäpfen vollführten. Man wird mit einiger Wahrscheinlichkeit annehmen können, daß sich die Cestoden in dieser Hinsicht wie die Anneliden verhalten, daß also periodische Kontraktionswellen der Transversalmuskeln mit solchen der Längsmuskulatur abwechseln und vom Vorderende aus nach hinten laufen. Mit den Verdickungswellen der letzteren belastet der Wurm jeweils seine Unterlage und schiebt sich so vorwärts. Eine 3. Gruppe von Parenchymmuskeln, die dorsoventral verläuft, bildet ziemlich starke Muskelsepten zwischen den einzelnen Gliedern, nur einzelne Fasern bewirken im Innern der Glieder eine Trennung der einzelnen Genitaldrüsen und ihrer Bestandteile voneinander, sie können vielleicht auch als Austreibungsmuskeln für Hodenbläschen und Eierstockschläuche angesehen werden, während die Geschlechtsausführwege sowie der Begattungsapparat eine eigene Muskulatur besitzen.

In Zusammenhang mit der besonderen Ausbildung des Muskelsystems steht naturgemäß eine weitgehende Differenzierung des Nervensystems. Ueber die besonderen Leistungen der verschiedenen Nervengruppen liegen noch gar keine experimentellen Beobachtungen vor, doch ist ihre Struktur gründlich genug erforscht worden. Das sogenannte zentrale Nervensystem des Skolex läßt sich zum Teil wenigstens von den Nervensträngen der Proglottiden ableiten bzw. als deren polare Fortsetzung auffassen, zum Teil ergibt sich sein Bau aus den jeweils verschiedenen anatomischen Verhältnissen dieses Körperabschnittes, insbesondere seiner Muskulatur. Dementsprechend hat das „Gehirn" zweierlei Aufgaben zu erfüllen: einmal ist es eine Ueberleitungszentrale für nervöse Erregungen, die in den durchgehenden 10 Längsnervensträngen der Proglottidenkette ablaufen, andererseits aber ein zentrales Sammelorgan für den Skolex selbst, in welchem die zahlreichen Nervenbahnen dieser Region zusammentreffen und sich teils direkt, teils indirekt miteinander verbinden.

Als funktionelle Nerven sind z. B. anzusprechen: die Scheitelnerven, die Nerven des Muskelzapfens, der Mm. retractores acetabulorum, des Ringwulstes (A. magna) bzw. der Fleischläppchen (A. perfoliata) sowie mehrere Paare von Saugnapfnerven. Ferner sind zwischen den Saugnäpfen, unter dem Scheitel und am Halsübergang zahlreiche Gruppen von Ganglienzellen anzutreffen, wahrscheinlich kleine Nebenzentren der nervösen Bahnen. In den verschiedenen Querschnittsebenen des Skolex liegen die ringförmigen Nervenkommissuren, welche eine sichere Koordination der Bewegungsimpulse gewährleisten. Besonders gut erkennt man sie bei A. magna wegen der günstigen Größenverhältnisse und weil noch beträchtliche Reste des Rostellums vorliegen. Außer der zentralen oder Hauptkommissur sind noch 3 solcher Ringe

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nachzuweisen: 1 Apikalring, 1 Rostellarring mit 4 Ganglienpaaren und 1 hinterer Nervenring unmittelbar vor dem Halsübergange. Zum Hauptzentrum (Gehirn) führen von vorn her die 4 Apikalstämme, welche aus Apikalästen und -zweigen hervorgehen und alle peripheren Kopfnerven dieser Region in sich aufnehmen, nur einzelne Saugnapfnerven stehen direkt mit dem Zentrum in Verbindung. Von hinten her, vom Halsteil kommen die 10 überall in der Proglottidenkette erkennbaren Längsnervenstämme, deren Anzahl sich kurz vor der Vereinigung in der polygonalen Kommissur durch Verschmelzung der lateralen auf 6 verringert hat, 2 laterale und 4 mediane. Die Verbindung der Nervenfaserbündel ist eine so mannigfache, daß man wohl mit Recht von einem „Gehirn" sprechen kann.

Andererseits kommt sicherlich auch den Hauptsträngen in den einzelnen Gliedern eine mehr oder weniger zentrale Bedeutung zu. Deutlich ausgeprägte Nervenquerkommissuren zwischen den beiden Hauptmuskelschichten (bei A. magna und perfoliata je 3, bei A. mamillana 5—6 in jedem Gliede) sorgen für die Koordination der Bewegungen. Funktionelle Fasern führen in großer Anzahl (äußere und innere Genitalnerven, äußere und innere radiäre Fasern, Marginalnerven) sowohl zu den Genitalorganen als auch zu verschiedenen Muskelgruppen, periphere, vielleicht sensible Fasern dringen bis zur inneren Schicht der Cuticula vor.

Alles in allem besitzen also die Pferdebandwürmer ein hochentwickeltes Nervensystem, was wiederum auf eine Innenwelt von größerer Mannigfaltigkeit schließen läßt, als man von einem Parasiten eigentlich erwarten sollte, welcher sein Dasein im Dunkeln, rings umgeben von Nährstoffen, verbringt, wo er weiter nichts zu tun braucht als zu wachsen und Nachkommenschaft zu produzieren. Organe für Lichtempfindungen erübrigen sich bei ihm ganz, auch bedarf es keines Lichtschutzes durch Pigmentierung — alle Bandwürmer sind farblos, nur bei Jugendformen von A. perfoliata habe ich eine hellockergelbe Farbe feststellen können, und trotz allem stehen diese Tiere ihrer so einseitigen Umwelt durchaus nicht teilnahmlos gegenüber. In erster Linie müssen sie befähigt sein, in ihrer Körperhaltung durch entsprechende Aenderung ihres Muskeltonus den peristaltischen Lage- und Gestaltsänderungen des Darmes rasch genug folgen zu können und sich ihnen anzupassen, sonst könnte ein vorzeitiges Zerreißen der Gliederkette eintreten, auch vom Inhalte des Darmes aus könnten ähnliche Beschädigungen hervorgerufen werden. Wichtiger sind jedoch dessen chemische Reize.

Jeder stärkere chemische Reiz, z. B. Hereinbringen der Tiere in Alkohol, Essigsäure, Sublimat u. a. zur Konservierung, wird durch sofortige Kontraktion der gesamten Körpermuskulatur beantwortet, wobei eine Verkürzung auf etwa ein Drittel des Längendurchmessers erfolgt, andererseits gelingt es ganz leicht, eine allgemeine Erschlaffung, d. h. Narkose mittels 1-prom. Chlorallösung herbeizuführen, wodurch man sehr schöne Demonstrationspräparate erzielen kann, wenn man die Tiere in ausgestrecktem Zustande spiralig auf Glasplatten oder -stäbe wickelt und dann mit einem kräftigen Fixierungsmittel (Formol z. B.) abtötet.

Trotz diffuser Innervation der ganzen Hautoberfläche, wobei die peripheren Fasern in eine knopfartige Anschwellung auslaufen, ist ein aktives Auswahlvermögen der Nahrungsstoffe nicht anzunehmen. Aber es wird dabei doch nicht jeder beliebige dargebotene Stoff vom Bandwurmkörper resorbiert, im Bedarfsfalle können vielmehr seine Resorp-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tionswege durch reflektorische Muskelkontraktion fest verschlossen werden, während bei der Erschlaffung der Muskulatur infolge des negativen Druckes eine schwammartige Aufsaugung der Nahrungssäfte erfolgen wird.

Ernährung.

Einem Maximum der Fruchtbarkeit entspricht ein großes Bedürfnis für möglichst günstige Ernährungsbedingungen, sowohl was Qualität als auch was Quantität der Nahrung anbelangt. Während die blutsaugenden Binnenschmarotzer (Distomeen, Nematoden, Gastrophilus-Larven, Echinorhynchen usw.) sich irgendein abgelegenes Plätzchen suchen können, wo sie durch die Darmperistaltik nicht zu sehr gestört werden (Blinddarm, Dickdarmposchen, Gallengänge, Nierenbecken), vielmehr sich dort bequem mit ihren kräftigen Mundwerkzeugen festhalten und ernähren können, sind die Bandwürmer wegen ihres absoluten Darmmangels zu osmotischer Nahrungsaufnahme genötigt, müssen also ungestört im nährstoffreichsten und zugleich resorptionsfähigsten Chymus verweilen können. Nur hier kann sich der „Einnahme- und Ausgabequotient" des Stoffwechsels am günstigsten gestalten. Der Magen bietet, abgesehen von seiner vielleicht sogar recht schädlichen Säurewirkung, nur ein unfertiges Nährmaterial, während andererseits in den hinteren Darmabschnitten ein nährstoffarmer Inhalt und seine giftigen Zersetzungsprodukte (insbesondere CO_2) weniger zum Verweilen darin einladen würden. Der gegebene Aufenthaltsort für unsere Schmarotzer ist also der dem Magen unmittelbar folgende Anfangsteil des Dünndarmes, der Zwölffingerdarm, wo einesteils die Neutralisierung des sauren Chymus, anderenteils das Resorptionsstadium der Eiweiße und Fette eintritt. Schon Abildgaard (1789) hat beobachtet, wie 5 Exemplare von Anoplocephala magna am Pylorus festsaßen und sich von da weit nach hinten in den Dünndarm hinein erstreckten. Nur postmortal oder wenn die Ernährungsverhältnisse des Wirtes zu wünschen übrig lassen (Magendarmkatarrh, Leberleiden u. a.) oder wenn sonstige, dem Wurm nicht behagende Veränderungen mit dem Nahrungsbrei vor sich gehen (Futterwechsel, Arzeneien z. B.), dann erfolgt ein reflektorischer Krampf der gesamten Körpermuskulatur, wodurch die Resorptionsfläche auf ein Minimum verkleinert wird oder gar keine Resorption mehr stattfinden kann. Kehren nach einiger Zeit nicht normale Zustände wieder ein, so verläßt der Wurm seine bisherige Wohnstätte, er wandert aus, wenn er auch weiter nach dem Dickdarm zu keine andere, zur Nahrungsaufnahme geeignete Wohnstätte mehr vorfindet. Aus diesem Grunde ist es verhältnismäßig leicht, ihn durch geeignete Arzneimittel (Arsenik, Brechweinstein, Terpentinöl und andere Antitaenica) abzutreiben, in manchen Fällen genügen schon energische Abführmittel (Drastica), da mit den beschleunigten Darmbewegungen die Neutralisierung des Chymus erst später erfolgen kann und die jetzt kontrahierten Würmer durchweg recht leicht in toto mit den peristaltischen Wellen fortgerissen werden. Ein Abreißen einzelner Proglottidenstrecken, indem der Skolex und die ersten Glieder an der Darmschleimhaut haften bleiben, wie es in dieser Art bei den echten Tänien und Bothriocephalen häufiger beobachtet wird, dürfte am ehesten noch bei A. perfoliata denkbar sein, wo ja stellenweise mehrere sterile, meist sehr zarte Glieder in die Kette eingeschaltet sind.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Da man die Tiere bei künstlicher Erwärmung des Darmes auf Körpertemperatur stets in leichter Schlängelung antrifft, so muß man eine ständige, schwach pumpende Bewegung durch den subcuticularen Hautmuskelschlauch annehmen, wodurch eine gleichmäßige Nahrungsaufnahme und Exkretabgabe gewährleistet ist. Damit nun auch möglichst viel von der reichlich gebotenen Nahrung aufgesogen werden kann, hat zugleich mit der beträchtlichen Längen- und Breitenausdehnung eine maximale Oberflächenvergrößerung des Tieres stattgefunden, einerseits durch starke Abplattung des Körpers, andererseits durch die schon vor jeglicher Ausbildung von Geschlechtsorganen deutlich wahrnehmbare Gliederung. Eine weitere Vergrößerung der Resorptionsfläche wird erzielt durch starke Fältelung und Blätterbildung, wie sie besonders bei A. perfoliata ins Auge fällt. Dem entspricht am Skolex das Vorhandensein von 4 langen, zipfelförmigen „Fleischlappen", während für A. magna ein breiter, kragenartiger „Halswulst", sowie zahlreiche Ringfalten charakteristisch sind. Bei A. mamillana hingegen ist es mir gelungen, unter der Subcuticula jedes Proglottidenwulstes einige zusammenhängende, zartwandige Hohlräume nachzuweisen, welche vielleicht dem „plasmatischen Kanalsystem" bei anderen Cestoden entsprechen und mit der Ernährungsweise der Würmer in Beziehung stehen.

Ueberhaupt zeigt sich im Aufbau des sogenannten Exkretionsgefäßsystems eine ausgesprochene Dualität in der Weise, daß Ringanastomosen und Nebengefäße einerseits, Hauptgefäße und Trichterzellen sowie Kapillaren andererseits zusammengehören, daß also das eine System vermutlich die Resorptionssäfte, das andere die Exkrete zu leiten hat, Klappenvorrichtungen fehlen allerdings in sämtlichen Leitungsröhren. Ueber die Rolle der vielfach im Leibesparenchym besonders der älteren Glieder verstreuten „Kalkkörperchen" im Stoffwechselgetriebe läßt sich noch immer nichts Bestimmtes aussagen. Vielleicht treten sie nur zu vorübergehender Bindung der Kohlensäure in Aktion, wenn z. B. der Wurm im Kontraktionszustande verharrt und auf inneren Abbau seiner Glykogenreservespeicher angewiesen ist, während Resorption und Exkretion still liegen müssen, oder wenn der zunehmende Druck der wachsenden Embryonen im Uterus die Ausgänge für die Exkretstoffe verlegt hat. Ebenfalls herrscht Ungewißheit über die Bedeutung der „homogenen Körper" im Skolex von A. magna.

Eine weitere offene Frage ist diejenige, ob die bei jungen Tieren durch den Porus excretorius der kontraktilen Endblase, bei älteren durch die Ausmündungen der beiden Hauptlängsgefäße des letzten Gliedes in den Darm des Pferdes entleerten Abbauprodukte des Stoffwechsels reine Exkrete sind, oder ob sie gleichzeitig „Zwecktoxine" darstellen, welche dem Parasiten als Machtmittel dienen. Denn sowohl gegenüber den chemischen Einwirkungen der Verdauungssäfte als auch gegen traumatische Beschädigungen durch den Darminhalt, insbesondere durch stacheliges Rauhfutter, bildet die mehrere Mikromillimeter starke, elastische Cuticula nur einen relativen Schutz. Mit zunehmendem Alter der Glieder erlahmt deren Widerstandskraft immer mehr, die Spannkraft (Tonus) der Muskeln schwindet, sie fallen einer Atrophie anheim, und die Embryonen entleeren sich aus den aufgeplatzten Proglottiden. Vorher darf dies jedoch noch nicht geschehen; man könnte also zunächst an eine einfache Neutralisierung des Verdauungschemismus durch die alkalischen Toxine denken, jedoch würde diese kaum ge-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nügen. Durch die normale Resorptionstätigkeit der Darmzotten wird dem Parasiten sehr viel Nahrung entzogen, er müßte also auch bestrebt sein, deren Lebenskraft sowie diejenige der Drüsenzellen (Lieberkühn) zu hemmen. Der Bandwurm müßte mit seinen chemischen Waffen von der Defensive zur Offensive übergehen können. So würde er erst aus einem harmlosen Gaste (Kommensalismus) zu einem Schmarotzer, welcher für den Wirt ernste Gesundheitsschädlichkeiten bewirken könnte; und dies ist nicht selten tatsächlich der Fall.

Folgezustände für das Wirtstier.

Werden die schädlichen Stoffe des Parasiten im weiteren Verlaufe des Dünndarmes dem Körperkreislauf einverleibt, so ergibt sich für das Wirtstier als allgemeine Folgeerscheinung eine starke Schädigung des Blutes, dieses zersetzt sich unter Abnahme der zellulären Bestandteile, eine Anämie und allmählich zunehmende Körperschwäche ist die Folge, die so lange fortschreitet, als die Giftaufnahme stattfindet. Dies wäre die Entstehung einer primären Taeniasis, einer Krankheitsform, welche schließlich auf eine chronische Vergiftung hinausläuft. Typische Beispiele für diesen Verlauf liefern die von Blumberg, Schwallenberg, Froehner, Graf u. a. beschriebenen Fälle. Wahrscheinlich macht sich in solchem Zustande auch schon der bloße Verlust an Nährmaterial, welches die Parasiten zu ihrem Stoffwechsel, ihrem raschen Wachstum und der regen Fortpflanzungstätigkeit verbrauchen, durch einen bedeutenden Säfteverlust und somit Kräfteverfall des Patienten bemerkbar. Man bedenke, daß die größten Exemplare von Anoplocephala magna bei einer Maximalbreite von 30 mm eine Länge von 1 m erreichen (Zürn), d. h. also fast die halbe Resorptionsfläche des gesamten Zwölffingerdarmes eines Pferdes besitzen!

Sobald die Würmer eine gewisse Größe überschritten haben, üben sie außerdem ebenso wie andere Fremdkörper einen merklichen Druck auf ihre Umgebung aus, hier also auf die Darmwand oder gar auf die Einmündungen der Gallengänge, der mit dem weiteren Wachstum immer mehr zunehmen kann. An diesen Druckstellen können Divertikel, Entzündungen, ja selbst Darmperforationen mit allen ihren pathologischen Folgeerscheinungen zustande kommen.

In der Mehrzahl der Erkrankungsfälle würde jedoch durch die Vernichtung des Wirtes zugleich der Weiterentwicklung der Parasiten ein frühes Ziel gesetzt werden, je eher um so größer ihre Anzahl ist. Ferner würde sich wohl auch ein gewisser Einfluß der Wurminvasion auf die Darmbewegungen geltend machen: Lähmung mit Kolikanfällen oder starke Reizung der Schleimhaut mit Darmkatarrhen und häufiger Abgang von Würmern oder, wenn ihrer zu viele sind, Darmverlegung durch ganze Wurmknäuel, alles Möglichkeiten der Komplikation des Leidens, für welche die Kasuistik genug wirkliche Beispiele aufweisen kann (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. 1920. Nr. 20).

Daß aber die letalen Ausgänge verhältnismäßig selten sind, liegt wohl darin begründet, daß sich die Waffen der Tänien über kurz und lang gegen ihre eigene Existenz richten. Die überaus empfindliche, sehr nervenreiche Schleimhaut des gesunden Pferdedarmes vermag sich stets durch kräftige peristaltische Bewegungen rein reflektorisch ihrer zahlreichen Eindringlinge zu erwehren. Einzelne Bandwürmer der kleineren Arten dürften wohl kaum irgendwelchen Schaden stiften, wer-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den also als harmlose Gäste Duldung finden und sich durch keine Zeichen der Außenwelt kundgeben.

Anders liegt die Sache freilich, wenn die Konstitution des Wirtstieres schon vorher stark geschwächt war, was sich darin äußert, daß alte Pferde mit chronischen Leiden (Zahnfehler, Magendarmkatarrh, Endokarditis, Bronchitis, Räude u. a.), ebenso wie Fohlen, welche wegen der Zartheit ihrer Gewebe vor allem mit besonderer Vorliebe auch von anderen Schmarotzern (Gastrophilus, Sclerostomum, Ascaris) heimgesucht werden, am schwersten erkranken. In den Vordergrund tritt dann durchweg das Bild einer schleichenden Kachexie, welche durch Summation aller Ursachen den Tierkörper bald völlig unfähig macht zur Abwehr weiterer Schädlichkeiten. Der Exitus letalis ist hier unvermeidlich. Er erfolgt in manchen Fällen auch durch Darmentzündung (Koliksymptome) infolge Darmobturation oder -perforation, wie es mehrfach beschrieben wurde. In einem Falle (Hürliman) stellte sich eine hochgradige allgemeine Muskellähmung ein, chronische Magendarmkatarrhe und Lungenentzündungen als Begleitkrankheiten der Taeniasis verliefen ebenfalls tödlich (eigene Beobachtungen).

Literatur.

Becker, R., Die äußere Gestalt der Pferdebandwürmer (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. 1921. S. 110—118 [neuere Literatur].) — Ders., Der Genitalapparat der Pferdebandwürmer. (Ebenda. Bd. 88. 1922. S. 483—501.) — Braun, M., Cestodes. (Bronns Klass. u. Ordn. d. Tierreichs. Bd. 4. 1894—1900 [ältere Literatur].) — Leuckart, R., Allgemeine Naturgeschichte der Parasiten. Leipzig u. Heidelberg 1879. — v. Uexküll, J., Umwelt und Innenwelt der Tiere. 2. Aufl. Berlin 1921.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über hämoglobinophile Bakterien[1]).

[Aus dem Statens Seruminstitut Kopenhagen (Direktor: Dr. Th. Madsen.]

Von **Martin Kristensen,** Abteilungsvorsteher.

Mit 1 Kurve im Text.

Die Untersuchungen wurden vom Juli 1918 bis März 1922 ausgeführt, und das Ziel der Arbeit war, die Frage über die Klassifikation aller Bakterien durchzuarbeiten, welche mit größerem oder geringerem Recht zur Gruppe der hämoglobinophilen Bakterien gerechnet worden sind. Da die Mikroben, welche nach der Anschauung des Verf. zu Pfeiffers Bazillus gezählt werden dürfen, bei weitem den wichtigsten Teil der eigentlichen hämoglobinophilen Bakterien ausmachen, ist es natürlich, daß in ihr in erster Linie diese Mikroben behandelt werden; es war aber nicht ihr Ziel, auf die Frage betreffs der bakteriologischen Aetiologie der Influenza im allgemeinen näher einzugehen.

---

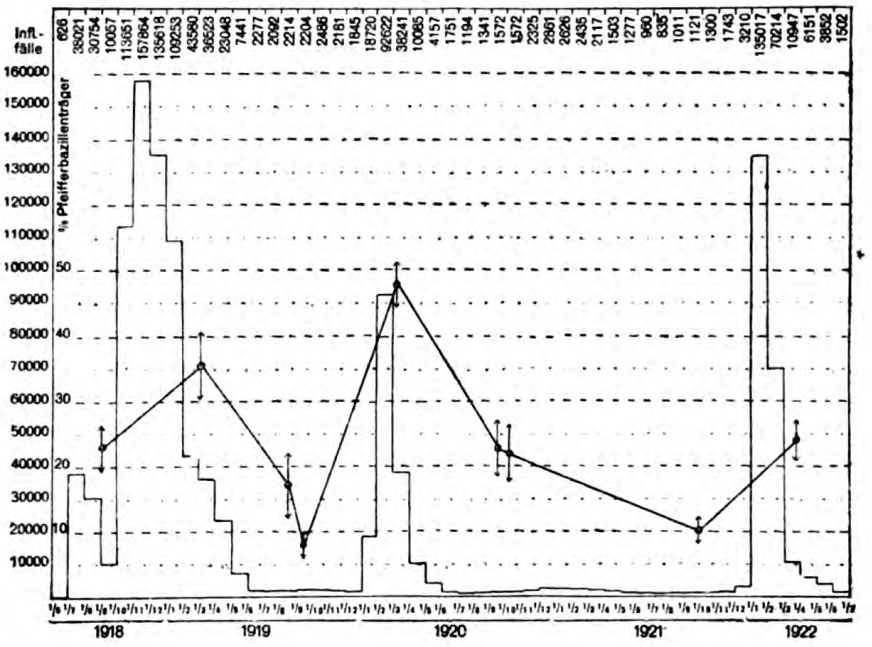
1) Kurzer Auszug aus Martin Kristensen, Investigations into the occurrence and classification of the haemoglobinophilic Bacteria. 272 pp. [Habilitationsschrift.] Kopenhagen 1922. Interessierte können, so lange vorrätig, ein Exemplar davon unentgeltlich erhalten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Vorkommen des Pfeifferschen Bazillus bei Influenza wurde während sämtlicher 4 Influenzaepidemien untersucht (betreffs des Verlaufes dieser s. die Kurve), und der Mikrobe ist, falls nicht anders angegeben, immer durch Züchtung nachgewiesen worden. In der vorwiegend aus unkomplizierten Fällen bestehenden Sommerepidemie 1918 wurde er in 5 von 153 Rachenimpfungen und in 4 von 23 Expektoraten nachgewiesen.

Während der Herbst- und Winterepidemie 1918—19 wurde er im Oktober 1918 in 6 von 26 von Pneumoniepatienten entnommenen Expektoraten gezüchtet und im Laufe desselben Monats erschien er bei Lungenpunktur post mortem in 9 von 37 Fällen von Influenzapneumonie und nur 1mal bei 17 Sektionen von derselben Krankheit.

Von November 1918 bis März 1919 kam der Pfeiffersche Bazillus in 61 (38 Proz.) von 162 Expektoraten zur Entwicklung, d. h. bei 34 (35 Proz.) von 98 Patienten. Er wurde am häufigsten in den



Kurve 1.

ersten Krankheitstagen gefunden, jedoch war er auch noch gewöhnlich ziemlich spät im Krankheitsverlaufe zu finden, ja sogar lange, nachdem der Pat. afebril geworden war. Ferner wurde er auch bei Pat. mit Pneumonie in 30 von 85 Expektoraten gefunden.

Im Dezember 1918 bis März 1919 wurde der Pfeiffersche Bazillus nach Sektion in 21 von 41 Fällen von Influenzapneumonie gezüchtet, und während der Epidemie von 1920 in 4 von 15 Expektoraten und bei 6 von 59 Sektionen.

Während der Epidemien von 1922 erschien er nach Rachenimpfung bei 24 von 38 an unkomplizierter Influenza leidenden Pat.; die Proben wurden in den ersten 2—3 Tagen nach Beginn der Krankheit entnommen.

Somit wurde der Pfeiffersche Bazillus während der 3 letzten Epidemien bedeutend häufiger als während der ersten nachgewiesen (die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verhältnismäßig niedrigeren Zahlen von 1920 erklären sich aus der aus äußeren Gründen angewendeten minderwertigen Technik).

Daß der spärliche Nachweis des Pfeifferschen Bazillus während der ersten Epidemie nicht ausschließlich auf mangelhafter Uebung in der Züchtungstechnik beruht, wird dadurch wahrscheinlich gemacht, daß die direkte mikroskopische Untersuchung der Expektorate ganz entsprechende Verhältnisse zeigte.

Beim Keuchhusten wurde eine sehr beträchtliche Verbreitung des Pfeifferschen Bazillus festgestellt, und zwar im März 1919 in 12 von 12 Fällen, im Juli 1919 in 2 von 5 und im September 1919 in 12 von 21 Fällen. Bei Masern wurde er im Januar 1920 bei 15 von 31 Pat. und bei Tuberkulose im Winter 1918—19 nach 5 von 7 Sektionen gefunden. In 5 Fällen von Meningitis bei Kindern erschien der Pfeiffersche Bazillus in Reinkultur in der Spinalflüssigkeit. Die Pat. wohnten teils in Kopenhagen, teils in anderen Gegenden des Landes. Eine gegenseitige Verbindung dieser Meningitisfälle ließ sich nicht nachweisen, und sie stellten sich im Anschluß an keine der Influenzaepidemien an. Von den 5 Pat. wurden 2 geheilt.

2240 gesunde Personen wurden durch Impfung aus dem Nasenrachenraum auf Pfeifferschen Bazillus untersucht. Das größte Interesse beansprucht eine Untersuchung von 9 Abteilungen neueinberufener Soldaten, im ganzen 1208 Mann. Die Untersuchungen wurden 1 bis 3 Tage, nachdem die betreffenden Personen direkt von ihren über das ganze Land unregelmäßig verteilten Aufenthaltsorten in Kopenhagen angekommen waren, angestellt. Man erhält somit an jedem der Zeitpunkte, wo die Untersuchungen gemacht worden sind, Aufschlüsse über die Verbreitung des Pfeifferschen Bazillus unter gesunden Männern aus dem ganzen Lande. Diese Impfungen ergaben das untenstehende Resultat:

		I.	II.	III. IV.
3.—4. Sept.	1918	142	32	(23 ± 3,5 Proz.)
5. März	1919	67	24	(36 ± 5,0 „)
13. Aug.	1919	54	9	(17 ± 5,1 „)
10. Sept.	1919	173	13	(8 ± 2,0 „)
6. März	1920	200	96	(48 ± 3,5 „)
14. Sept.	1920	99	23	(23 ± 4,2 „)
5. Okt.	1920	84	19	(22 ± 4,5 „)
24. Sept.	1921	195	19	(10 ± 2,1 „)
21. März	1922	194	46	(24 ± 3,1 „)

I. Anzahl der untersuchten Personen.
II. „ „ „ „ mit dem Pfeifferschen Bazillus.
III. Prozentsatz „ „ „ angeführten Zahlen.
IV. Die theoretische Standardabweichung der zuletzt angeführten Zahlen (bei p Proz. positiven Nachweises an n Soldaten macht diese Abweichung $\sqrt{\frac{p\,(100-p)}{n}}$ Proz. aus).

Die Figur gibt eine graphische Darstellung der beim positiven Befunde erhaltenen Prozentsätze, und die Doppelpfeile geben die Größe des Mittelfehlers an. Die treppenförmige Kurve zeigt die Anzahl der im ganzen Lande monatlich angemeldeten Influenzafälle und dieselben Zahlen sind fernerhin entlang dem oberen Rande des Figurenfeldes angeführt worden.

Die Figur zeigt einen sehr regelmäßigen Zusammenhang der Influenza und der Verbreitung des Pfeifferschen Bazillus bei gesunden Personen.

Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Außer den neueinberufenen Soldaten wurden in einer Reihe von Fällen Impfungen von Mannschaften, die mehrere Monate gedient haben, unternommen. Bei Impfung im Januar 1919 von 22 Soldaten aus derselben Stube wurde der Pfeiffersche Bazillus bei allen, und zwar am häufigsten in beträchtlicher Menge, gefunden. Die Mehrzahl dieser Soldaten hatte wenige Monate früher Influenza gehabt. Aber auch bei Impfungen aus Lagern, wo im letzten Monate vor der Impfung keine Influenza aufgetreten war, wurde der nämliche Bazillus in wesentlich größerer Verbreitung als bei den neueinberufenen Soldaten, welche als Repräsentanten der Zivilbevölkerung anzusehen sind, gefunden. Im September 1921 wurde somit in einer Kaserne der betreffende Bazillus bei 78 (34 Proz.) von 230 Mann nachgewiesen.

Etwas häufiger war der Pfeiffersche Bazillus bei Soldaten, die angeblich Influenza gehabt hatten, als bei den übrigen gefunden; der Unterschied war aber so gering, daß er sehr wohl auf Zufälligkeiten beruhen kann; jedenfalls darf man annehmen, daß gesunde Personen, die nicht an Influenza gelitten haben, oft mit dem betreffenden Bazillus infiziert sind.

Durch Züchtung aus der Mundhöhle von 60 Meerschweinchen konnte der Pfeiffersche Bazillus bei 5 nachgewiesen werden, nicht aber an 33 Pferden und 43 Mäusen.

Das Vorhandensein des betreffenden Bazillus wurde in sämtlichen angeführten Fällen (jedoch mit Ausnahme einiger der Kulturen aus Influenza, die nur nach dem makro- und mikroskopischen Bilde diagnostiziert wurden) durch Mikroskopie, durch das Aussehen des Wachstums auf Blutagar und Hämoglobinagar, durch Versagen des Wachstums auf gewöhnlichem Agar (oder Aszitesagar) und schließlich durch die Wachstumsbeschleunigung um Kolonien anderer Bakterien verifiziert.

Im ganzen sind ca. 800 Stämme des Pfeifferschen Bazillus gezüchtet worden, von welchen ca. 150 auf eine größere Anzahl von Eigenschaften untersucht wurden. Diese Untersuchung war die Hauptaufgabe dieser Arbeit, deren wichtigste Resultate unten angeführt sind:

Sämtliche Stämme, die als Bacillus Pfeifferi bezeichnet worden sind, sind gramnegative, unbewegliche, asporogene Stäbchen, welche in Reinkultur, selbst nach jahrelanger Züchtung, auf gewöhnlichem Bouillon-Peptonagar absolut kein Wachstum geben, ebenso wenig auf (einem möglichst blutfreien) Aszitesagar, von vereinzelten Fällen abgesehen, bei denen auf dem letzterwähnten Substrate ein schwaches, inkonstantes Wachstum zu beobachten war. Auf hämoglobinhaltigen Substraten ist das Wachstum in gesetzmäßiger Weise von der Zusammensetzung des Nährbodens abhängig, indem es u. a. auf einem Blutagar mit unbeschädigten Blutkörperchen immer schwach ist, dagegen auf einem gelöstes oder erhitztes Blut enthaltenden weit üppiger. Das Wachstum geht immer so schnell vor sich, daß nach 1 Tage wohlentwickelte Kolonien vorhanden sind. Sämtliche Stämme waren ausgesprochen aërob und verhielten sich in der Abhängigkeit von der Reaktion des Nährbodens völlig gleich. Die Minimaltemperatur für das Wachstum lag zwischen 20° und 25° C, und die Kulturen ließen sich sowohl durch 1-täg. Eintrocknen wie durch 5-wöchiges Stehen bei Eiskellertemperatur töten. Hämolytische Fähigkeit, Schmelzen von Gelatine oder erstarrtem Serum, Spaltung von Arbutin, oder sicher beobachtbare Vergärung von Glukose wurde in keinem Falle beobachtet.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Allen diesen gemeinsamen Eigenschaften zum Trotze ließen sich in mehrere Richtungen hin unter den Stämmen beträchtliche Unterschiede feststellen. Als Grundlage einer Einteilung in Hauptgruppen wurde das makroskopische Aussehen der Kulturen und ihre Konsistenz auf verschiedenen Nährböden in Verbindung mit der Symbiosereaktion als besonders geeignet betrachtet, und es wurde eine Einteilung der Pfeifferschen Bazillen in „typische" und „atypische" aufgestellt. Das untenstehende Schema gibt eine Uebersicht der gegenseitigen Abweichungen dieser beiden Gruppen:

	Typische	Atypische
Die einzelnen Kolonien	Ziemlich groß, halbdurchsichtig, mit wohlentwickelten Granulationen (ziemlich großen, scharf begrenzten Bildungen, welche besonders an den zentralen Teilen der Kolonie sich finden).	Klein, undurchsichtiger, keine oder schwach entwickelte Granulation. Die ganze Kolonie ist (bei schwacher Vergrößerung) oft von grober Struktur.
Wachstum auf Blutagar	Ganz kleine, flache, klare Kolonien, die bei dichter Aussaat einen zusammenhängenden Ueberzug bilden.	Die Kolonien sind mehr gewölbt und voneinander isolierter.
Wachstum bei der Symbioseprobe	Kräftige Symbiose; das Aussehen ist bei starkem Wachstum von rein weißer Farbe; Wachstum zusammenfließend und von weicher, homogener Konsistenz.	Alle Abstufungen von ausbleibender bis wohlentwickelter Symbiose lassen sich beobachten. Aussehen gräulicher oder gelblicher, trocken und verwittert.
Vorkommen	Influenza, Keuchhusten, Masern, Meningitis, gesunde Personen.	Bei gesunden Personen und bei Masern, häufig bei Influenza und Keuchhusten seltener.

Es läßt sich jedoch zwischen beiden Gruppen keine scharfe Grenze ziehen. Die erwähnte Symbioseprobe wird in der Weise angestellt, daß die Kultur des Pfeifferschen Bazillus in 2 parallele Streifen mit einem Zwischenraum von ca. 1 cm gesät und an einem einzelnen Punkte in diesem Zwischenraume ein passender wachstumsfördernder Bazillus geimpft wird, wozu sich ein weißer Mikrokokkus aus der Luft als besonders geeignet gezeigt hat. Die Wirkung dieser wachstumsfördernden Mikroben zeigt sich dann in einer Entfernung von bis ca. 1,5 cm.

Als Nährboden bei der Symbioseprobe kam bei 100° sterilis. Agar oder Aszitesagar mit einem Zusatz von ca. 1 $^0/_{00}$ hämolysierten Pferdeblutkörperchen zur Verwendung. Das Wachstum außerhalb des Wirkungsgebietes des Mikrokokkus wird dann nur ein ganz schwaches. Falls größere Hämoglobinmengen zugetan werden, oder wenn erhitztes, mit Säure behandeltes, pepsinverdautes Blut oder Taubenblut zur Verwendung kommt, wird das „Symbiosephänomen" bedeutend schwächer oder bleibt völlig aus. Es hat sich ferner herausgestellt, daß die wachstumsfördernde Wirkung oft völlig ausbleibt, wenn der Mikrokokkus (oder eine andere sonst wachstumsfördernde Bakterienart) nicht in einer gewissen Entfernung von der Pfeiffer-bazilluskultur, sondern im Streifen geimpft wird.

Der Ausschaltung aller dieser Fehlerquellen zum Trotze wurden nach Impfungen aus gesunden Personen jedoch einige Stämme von hämoglobinophilen Bakterien gefunden, bei welchen das Symbiosephänomen entweder völlig ausblieb, oder äußerst schwach entwickelt war; dennoch ließen sich aber diese Stämme vom Pfeifferschen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bazillus nicht unterscheiden, weil die Uebergänge von diesen zu solchen mit ausgesprochener Symbiose völlig fließend sind.

Das mikroskopische Bild der untersuchten Kulturen des Pfeifferschen Bazillus zeigte sehr beträchtliche Variationen sowohl unter den verschiedenen Stämmen, als unter den verschiedenen Kulturen von demselben Stamme.

In den meisten Fällen ergaben die „typischen" Pfeiffer-Bazillen das klassische „Influenzabazill-Bild", während die „atypischen" im ganzen eine gröbere und unregelmäßigere mikroskopische Morphologie zeigten. Auf Grundlage des mikroskopischen Bildes irgendeine Einteilung aufzustellen, hat sich jedoch als unmöglich gezeigt, und zwar sowohl wegen der beträchtlichen Variabilität der einzelnen Stämme in dieser Beziehung, als auch wegen der fließenden Uebergänge, die sich anscheinend überall auf diesem Gebiete geltend machen.

Es lassen sich, vielleicht mit ganz vereinzelten Ausnahmen, in jeder Kultur des Pfeifferschen Bazillus gewisse rundliche Körper beobachten, deren Größe übrigens bedeutend wechseln kann, und zwar von einem Bruchteil von 1 μ bis 3—4 μ; im Verhältnis zu den stäbchen- oder fadenförmigen Elementen können sie endständig, seitenständig sein — mitunter auf einem kleinen Seitenast sitzend — oder sie können im Stäbchen oder Faden selbst liegen. Die besonders großen Elemente werden am häufigsten blaß gefärbt, während die kleineren die Farbe intensiver aufnehmen, so daß sie selbst bei einfacher Fuchsinfärbung eine intensive schwarze Farbe annehmen können und bei Verwendung von Gram-Färbung von grampositiven Elementen sich nicht unterscheiden lassen.

Die Minimaltemperatur für das Wachstum lag, wie erwähnt, zwischen 20° und 25° C; es fanden sich aber unter den einzelnen Stämmen ausgesprochene Unterschiede, doch stellte sich zwischen diesen und den übrigen Eigenschaften der Stämme kein Zusammenhang heraus.

Bei der Indolprobe zerfallen die Pfeifferbazillen in zwei scharf ausgeprägte Gruppen: Indolbildner und solche, die kein Indol bilden. Dieses Verhalten ist für den einzelnen Stamm sehr konstant und in großer Ausdehnung von der Versuchstechnik unabhängig. Man erhält gewöhnlich dieselbe Einteilung, selbst wenn so verschiedenartige Substrate wie Pepton Witte, Erepton oder trypsinverdautes Kasein zur Indolbildung verwendet werden. Das letzte gibt (als Zusatz zu einem näher beschriebenen Hämoglobinnährboden) die kräftigste und am schärfsten markierte Reaktion. Die meisten der positiv reagierenden Pfeiffer-Bazillen bilden auf diesem Nährboden Indol mit einer ähnlichen Intensität wie Coli-Bazillen.

Obwohl die Sonderung nach Indolbildung eine so scharfe ist, scheint sie doch nicht so „tiefgehend" zu sein, daß sie als Hauptgrundlage einer Einteilung der Pfeiffer-Bazillen verwendbar ist, indem kein regelmäßiger Zusammenhang zwischen dem Resultate der Indolreaktion und den übrigen Eigenschaften der Stämme nachgewiesen werden kann. Gewiß bilden die allermeisten „typischen" Stämme Indol, während die allermeisten „atypischen" dies nicht tun; es finden sich aber unzweifelhafte Ausnahmen von dieser Regel, und eine statistische Berechnung des Verhältnisses zwischen Indolreaktion und Agglutination zeigt, daß ein einem Stamm A entsprechendes Serum ebensowohl einen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stamm B mitagglutinieren kann, auch wenn A und B sich betreffs Indolbildung gleich oder verschieden verhalten.

Es stellte sich durch sehr ausgedehnte Agglutinationsversuche, die zum Teil mit Absorption kombiniert wurden, heraus, daß unter den einzelnen Stämmen außerordentlich ausgesprochene Unterschiede vorkommen, was auch für Stämme, die von Influenzapneumonien innerhalb derselben Epidemie gezüchtet worden waren, Geltung hatte.

Es ließ sich jedoch bei mehreren gesunden Soldaten aus derselben Kaserne ein Pfeiffer-Bazillus nachweisen, welcher bei Agglutination und Agglutininabsorption sich als einem Stamm aus einer Influenzapneumonie identisch erwies. Auch in einzelnen anderen Fällen wurden agglutinatorisch identische Stämme verschiedenen Ursprunges gefunden. Auf Grund der Agglutination ließ sich also keine Einteilung in wohlabgesonderte Gruppen aufstellen.

Auch bei Komplementablenkungsversuchen, die jedoch nur in geringer Ausdehnung unternommen wurden, stellten sich bei den untersuchten Stämmen ausgesprochene Unterschiede heraus.

Nach dieser Analyse von Aehnlichkeiten und Verschiedenheiten unter den Pfeiffer-Bazillen ist ein Vergleich dieser ganzen Gruppe mit drei „nahestehenden" Arten unternommen worden, und zwar mit hämolytischen, hämoglobinophilen Bakterien, dem Keuchhustenbazillus Bordets und dem Bacillus haemoglobinophilus canis. Jede dieser Arten war sehr wohlcharakterisiert und vom Pfeifferschen Bazillus durch eine Reihe Eigenschaften verschieden.

Die ersterwähnte Art darf als dem Pfeifferschen Bazillus am nahestehendsten betrachtet werden, was sich besonders daran zeigt, daß die meisten Stämme innerhalb dieser die typische „Symbiosereaktion" geben und nicht imstande sind, gegenüber dem Pfeifferschen Bazillus als wachstumsfördernde Mikroben zu wirken, ebensowenig wie ein Stamm des Pfeifferschen Bazillus das Wachstum eines andern fördern kann. Das Hauptunterscheidungsmerkmal ist die Hämolyse; es muß ferner hervorgehoben werden, daß die „hämolytischen hämoglobinophilen Bakterien" vom Hämoglobin nicht so absolut abhängig sind wie der Pfeiffersche Bazillus.

Der Bacillus haemoglobinophilus canis hat sich als ausgesprochen hämoglobinophil gezeigt; die wichtigsten Punkte, in denen die untersuchten Stämme von dem Pfeifferschen Bazillus abwichen, waren: Sie können das Wachstum des Pfeifferschen Bazillus hochgradig fördern; ihr Eigenwachstum erfährt beim Vorhandensein anderer Bakterien absolut keine Förderung; sie geben ferner im glukosehaltigen Nährboden eine starke Säurebildung und sind beim Eintrocknen resistenter, auch ist das Wachstum auf Blutagar bedeutend üppiger, als das des Pfeifferschen Bazillus.

Bei der Untersuchung einer beträchtlichen Anzahl von Stämmen des Bordetschen Bazillus stellte sich heraus: 1) daß diese sich in jeder Beziehung außerordentlich gleichartig verhielten, indem an keinem Punkte überhaupt ein sicherer Unterschied unter 2 Stämmen innerhalb dieser Art sich nachweisen ließ; 2) daß viele und sehr ausgesprochene Unterschiede zwischen dem Bordetschen und dem Pfeifferschen Bazillus vorhanden sind. Besonders kann hervorgehoben werden, daß die Ernährungsbedingungen dieses Bazillus von denen des Pfeifferschen sehr abweichend sind: er wächst auf blutfreiem Aszitesagar gut,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dagegen auf mehreren der hämoglobinhaltigen Nährböden, die für den Pfeifferschen Bazillus besonders geeignet sind, gar nicht. Das Wachstum keiner der Keuchhustenstämme wurde durch das Vorhandensein anderer Bakterien gefördert, wohingegen sie selbst eine deutliche wachstumfördernde Einwirkung gegenüber dem Pfeiffer schen Bazillus ausübten.

Diese und mehrere andere der untersuchten Verhältnisse sind zwar bekannt; es wurde aber hier besonders darauf Gewicht gelegt, eine systematische Durchprüfung einer großen Anzahl von Stämmen vorzunehmen, so daß man mit größerer Sicherheit als früher feststellen konnte, daß jedenfalls die in Dänemark vorkommenden Stämme des Bordetschen Keuchhustenbazillus eine ungewöhnlich wohlcharakterisierte und abgegrenzte Bakterienart bilden.

Auf Grund der Literatur über hämoglobinophile Bakterien und in Verbindung mit eigenen Erfahrungen mache ich folgende Anschauungen betreffs der Systematik der hämoglobinophilen Bakterien geltend: Unabhängig von dem in den letzten Jahren erfolgten Nachweis, daß der Pfeiffersche Bazillus auf gewissen Substraten, welche überhaupt keine Blutderivate enthalten, wachsen kann, muß fortwährend daran festgehalten werden, daß die eigentümlichen Nahrungsansprüche, die das Adjektiv „hämoglobinophil" an den Namen dieser Bakterien geknüpft haben, eine so eigentümliche, scharf markierte Eigenschaft gewisser Bakterien sind, daß man berechtigt ist, sie zur primären Begründung einer Abgrenzung dieser Bakterien zu verwenden. Man erhält dann die folgende Einteilung:

1) Der Pfeiffersche Bazillus (Bacillus influenzae[1]) = hämoglobinophile Bakterien im strengsten Sinne. Hierher gehören: Der Trachombazillus Müllers, Jochmann u. Krauses Bacillus pertussis Eppendorf, Meuniers Bazillus, Cohens „bacille de la méningite cérébrospinale septicémique" und im ganzen die hämoglobinophilen Bakterien, die die Ursache der Meningitis und septikämisches Infektion sind. Ferner wahrscheinlich auch der Bazillus Elmassians, Luzzatos „Bacillus minutissimus sputi" und Jundells Bacillus catarrhalis.

2) Hämolytische hämoglobinophile Bakterien.

3) Bacillus haemoglobinophilus canis.

Die beiden letzterwähnten Arten sind jede für sich wohlcharakterisiert, sie sind nach den von anderen Verfassern und von mir gemachten Erfahrungen weniger ausgesprochen hämoglobinophil, als der Pfeiffersche Bazillus.

4) Bakterien, die nach den vorliegenden Beschreibungen hämoglobinophil zu sein scheinen, sich aber nicht klassifizieren lassen, weil jeder nur von einem Verfasser beschrieben worden ist: Bacillus septicaemiae canis (Paranhos); die hämolytische, hämoglobinophile Bakterie Davis' aus den Harnwegen.

5) Von Mikroben, die man zur Gruppe der hämoglobinophilen Bakterien rechnen möchte, die aber außerhalb dieser stehen, wegen

---

1) Obwohl ich die Rolle des Pfeifferschen Bazillus als primärer Influenzamikrob für sehr unwahrscheinlich halte, ist der betreffende Bazillus doch in anderer Weise so eng an die Influenza geknüpft (und außerdem an eine Reihe anderer Krankheiten), daß der Bezeichnung Bac. influenzae, auch von historischen Gründen abgesehen, immer eine gewisse Berechtigung zukommt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

solcher Eigenschaften wie gutes Wachstum auf hämoglobinfreiem Aszitesagar (oder sogar gewöhnlichem Agar), oder wegen einer nur temporären Abhängigkeit vom Hämoglobin, seien hier erwähnt:

Bordets Bazillus, Koch-Weeks' Bazillus, Mc Kees Bazillus, Morax-Axenfelds Bazillus, Ducrey-Kreftlings Bazillus, die Bazillen von Beck, Kraus, Volk und Kurita aus Kaninchen, Franks Bazillus aus Schweinen, Bacillus bronchisepticus (Ferry), Bacillus septicaemiae anserum exsudativae (Riemer-Frosch u. Bierbaum-Löffler), Wolffs Bazillus aus Ratten, Marx' Bazillus aus Tiger u. m. a.

Nachdruck verboten.

Ueber die Wirkung subkutaner Terpentininjektionen bei Kaninchen.

Von Privatdoz. Dr. **T. A. Venema** in Groningen.

I.

Bekanntlich wurde 1891 von Fochier über günstige Erfolge von Terpentininjektionen bei Kranken mit Puerperalfieber berichtet. In den darauffolgenden Jahren hat dann eine stattliche Zahl von Autoren über die Wirkung von subkutanen Terpentininjektionen berichtet, und zwar nicht nur beim Puerperalfieber, sondern auch bei zahlreichen anderen Krankheiten sowohl von Menschen wie Tieren.

Daß der Effekt eines Mittels bei verschiedenen Krankheiten ein ganz verschiedener sein kann, liegt auf der Hand. Jedoch herrscht bei dieser Therapie bei ein und derselben Krankheit große Uneinigkeit über den Erfolg, den verschiedene Autoren bei der Anwendung dieses Mittels gesehen haben wollen.

W. Janowski[1]) sagt, daß, weil Terpentin ein Gift für die Nieren ist, die Anwendung weniger häufig stattfindet. Doch findet man in der Literatur sehr zahlreiche Arbeiten über dieses Mittel.

Unter den neuesten finden wir z. B. einen Artikel von A. Hermstein[2]) über die Terpentinbehandlung der puerperalen Sepsis. Der Autor sagt, daß Wederhake in Terpentinöl und Kampfer(!) die gegebenen Mittel gegen Staphylokokken- und Streptokokkenerkrankungen sieht, und sie empfiehlt, wo es sich darum handelt, die in der Blutbahn kreisenden Mikroben zu bekämpfen. Auf Grund jener Erfahrungen nahm Hermstein die Behandlung von 30 septischen Puerperalinfektionen mit Terpentineinspritzungen in Angriff und stellte am Schlusse seiner Arbeit auf Grund seiner Erfahrungen fest, daß Terpentininjektionen bei puerperaler Sepsis erfolglos sind.

Ich habe nun Versuche mit Kaninchen angestellt, welche mit Staphylokokken (Staphylococcus pyogenes aureus) infiziert wurden.

1) Riforma med. Vol. 37. p. 803.
2) Centralbl. f. Gyn. 1921. S. 683.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Tiere wurden so ausgewählt, daß je 2 und 2 möglichst gleich waren; es wurde dabei nach Möglichkeit auf Gewicht, Geschlecht, Alter, Herkunft und Art geachtet. Die 1. Reihe von Tieren wurde subkutan infiziert und 24 Std. später wurde die Hälfte der Tiere subkutan mit unverdünntem Terpentin eingespritzt. Die Dosis wurde nach dem Gewicht bemessen und betrug 0,1—0,2—0,3 und 0,4 ccm pro Kilo Körpergewicht. In einem Teile der Fälle wurde die Injektion unter die Bauchhaut, meistens aber unter die Brusthaut gegeben. Die Staphylokokken wurden als 24-stünd. Bouillonkultur an den gleichen Stellen, aber an der anderen Seite, injiziert, während die Dosis zwischen 1 und 4 ccm wechselte. In einigen Fällen wurde eine Laboratoriumskultur benutzt, in den anderen aber ein Stamm, den wir aus einem Halsabszesse eines Menschen gezüchtet hatten und wovon 0,3 ccm intravenös ein erwachsenes, kräftiges Kaninchen in 5 Tagen tötete.

Alle Kaninchen, mit Ausnahme 1 Kontroll- und 1 Terpentintieres, welche durch interkurrente Ursachen verendeten, machten nach einigen Wochen einen vollkommen normalen Eindruck, ihr Gewicht war wieder wie zuvor. Bei den sehr lange beobachteten, subkutan infizierten Tieren habe ich weder Vor- noch Nachteile von der Terpentineinspritzung gesehen, soweit das sich wenigstens beurteilen ließ aus Gewicht und äußerem Verhalten der Tiere, und zwar sogar nicht bei Mengen von 0,4 ccm pro Kilo Körpergewicht, für menschliche Verhältnisse ein nicht geringes Quantum.

Bei meinen Versuchen habe ich mir bloß eine praktische Frage gestellt mit Bezug auf die Terpentinwirkung. Ich habe bloß festzustellen versucht, ob bei mit Staphylokokken infizierten Kaninchen die subkutane Terpentineinspritzung imstande wäre, den Tod der Tiere abzuwenden bzw. den Zeitpunkt des Todes zu verspäten.

Nun ging ich dazu über, Kaninchen (20 Stück) intravenös zu infizieren. Bei der Hälfte wurde darauf subkutan Terpentin verabreicht in der Dosis von 0,4 ccm pro Kilo Körpergewicht. Die 1. Reihe von Tieren wurde teils sofort, teils 24 Std. nach der Infektion, eingespritzt. Inzwischen hatte die Virulenz unserer Kultur etwas abgenommen, weshalb wir ein Kaninchen mit einer tödlichen Dosis infizierten und den Stamm wieder aus der Niere des verendeten Tieres züchteten, wobei sich herausstellte, daß der Stamm für Kaninchen bedeutend virulenter geworden war. Mit dieser Kultur wurde nun die 2. Reihe (12 Tiere) infiziert und dabei das Terpentin stets sofort nach der Infektion gegeben, während bei 2 Tieren die Einspritzung wiederholt wurde. Sämtliche Tiere starben, und zwar von den mit der weniger virulenten Kultur infizierten die Terpentintiere im Durchschnitt 16 Tage, die Kontrollen 15 Tage nach der Infektion.

Bei den mit der virulenten Kultur infizierten Kaninchen verendeten die Terpentintiere nach 5, die Kontrollen nach 3 Tagen. Bei dieser letzten Reihe von Tieren haben wir also einen gewissen Vorteil bezüglich des Zeitpunkts des Todes bei den Terpentintieren zu verzeichnen. Obwohl dieser Vorteil praktisch wenig zu bedeuten hat, müssen wir doch versuchen, Gründe aufzudecken.

1. liegt dieser Vorteil in dem längeren Leben eines einzigen Tieres, und, wenn wir bei dieser Reihe von Tieren, dieses 1 Kaninchen nebst dem Kontrolltier außer Betracht lassen, so betrug die Zahl im Durchschnitt für die Terpentintiere 3, für die Kontrolltiere sogar 4 Tage.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Was ist nun die Ursache des längeren Lebens bei diesem einen Tiere? Man könnte dabei selbstverständlich an einen Einfluß des Terpentins denken, doch gibt es mehr Möglichkeiten: 1) können wir es dabei mit individuellen Unterschieden in der Resistenz gegen Infektion zu tun haben. Auch könnte die Art der Krankheit, welche der Infektion folgt, dabei im Spiele sein, also die Eigenart des Individuums bzw. der Zufall. Das länger lebende Tier W. (1600 g) verendete 17 Tage nach der Infektion und zeigte bei der Sektion die bekannten Herde in Nieren und Leber. Ein ähnliches Terpentintier (2200 g) starb jedoch schon nach 2 Tagen, zeigte aber bei der Sektion eine Pericarditis!

Es gibt Autoren, die bei der Terpentineinspritzung bei Menschen viel Wert auf das „Haften" des Terpentins, mit anderen Worten auf das baldige Entstehen eines entzündlichen Tumors, legen. Letzteres ist nach ihnen ein günstiges Symptom, das Ausbleiben aber ein ungünstiges. So weist z. B. Todd[1]) darauf hin, daß, wenn innerhalb 48 Std. kein Zeichen von Entzündung auftritt, falls genügend Terpentin eingespritzt wurde, der Pat. wahrscheinlich zu schwach ist, zu reagieren.

Bei meinen Tieren habe ich auch auf diesen Punkt geachtet und habe keinen Grund, dem Auftreten eines Terpentintumors, 24 Std. nach der Injektion, einigen Wert beizumessen. Beim einen Tiere trat er auf, während er beim anderen ausblieb, ohne daß übrigens ein Unterschied von praktischer Bedeutung, z. B. mit Bezug auf den Zeitpunkt des Todes, zu verzeichnen wäre.

Bei einem Teile meiner Tiere wurde das Terpentin sofort nach der Infektion eingespritzt; bei einem Tiere hatte sich nach 24 Std. ein sehr deutlicher Tumor gebildet, beim anderen nicht, ohne daß im Verlaufe der Krankheit ein Unterschied auffiel. Wenn man es mit kräftigen erwachsenen Tieren zu tun hat, ist es also fraglich, das Auftreten des entzündlichen Tumors bzw. das Ausbleiben desselben von der Kräftigkeit bzw. Schwäche des Tieres abhängig machen zu müssen. Jedenfalls ist hier also irgendein noch unbekannter Faktor im Spiele. Trotzdem ist es selbstverständlich nicht ausgeschlossen, daß beim Menschen mit ausgesprochener Infektion, wobei Terpentin gegeben wird, gerade diejenigen in der Regel einen entzündlichen Tumor vorzeigen werden, die von Hause die kräftigeren, bzw. durch die Krankheit am wenigsten geschwächten sind, so daß in diesem Falle das Auftreten eines entzündlichen Tumors bloß einen rein prognostischen Wert zu haben brauchte, ohne daß man berechtigt wäre, der Terpentineinspritzung therapeutischen Wert beizumessen und ohne also zur gebräuchlichen Hypothese betreffs des „abcès de fixation" seine Zuflucht nehmen zu brauchen. Es wäre erklärlich, daß ein Individuum, zu schwach, um die Krankheit mit Erfolg zu bekämpfen, auch zu schwach wäre, kräftig auf eine Terpentininjektion zu reagieren.

Auch bleibt ein Terpentintumor verschieden lange bestehen. So fand ich z. B. bei den Kaninchen 1, 8, 4 und 7 (0,4 ccm Terp. p. Kilo) 24 Std. nach der Einspritzung einen sehr dicken Tumor, der bei 1 und 7 nach 6 bzw. 5 Tagen kaum noch fühlbar war, während er bei 8 und 4 nach derselben Zeit noch sehr stark war. Nach 12 Tagen starb Nr. 1 und bei der Sektion wurde kein Terpentinabszeß gefunden.

Doch war es bei den länger lebenden (z. B. subkutan infizierten) Kaninchen bei der Sektion ein gewöhnlicher Befund, ein deutliches Re-

1) Lancet. 1922. p. 12.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aktionsprodukt an der Stelle der Terpentineinspritzung anzutreffen. Bei Tieren, die einige Wochen nach der Einspritzung seziert werden, kann man an der Injektionsstelle einen scharf abgegrenzten Tumor finden, aus einer gelben gleichmäßigen Substanz bestehend, mit der Konsistenz sehr dicken Rahmes und mit schwachem Terpentingeruch. Für die Entstehung eines solchen Reaktionsprodukts ist eine gewisse Zeit nötig, wodurch es erklärlich wird, daß es bei nach verhältnismäßig kurzer Zeit verendeten Tieren nicht gefunden wurde. Uebrigens verhielten sich die Terpentintiere nicht anders als die Kontrollen.

Findet man also bei einem erst verhältnismäßig längere Zeit nach der Infektion verendeten Tiere, wie z. B. bei unserem Kaninchen W., wovon oben die Rede war, einen Terpentinabszeß, so hat man nicht das Recht, diesen Abszeß als Ursache des längeren Lebens zu betrachten. Wahrscheinlich ist dieses Reaktionsprodukt da, weil es sich eben infolge des längeren Lebens des Tieres hat bilden können.

Wenn wir nun schließlich die Antwort auf unsere anfangs gestellte Frage geben müssen, ob bei unserern Tierversuchen die Terpentineinspritzung imstande wäre, den Tod der Tiere abzuwenden, so lautet diese Antwort verneinend.

Was nun den Zeitpunkt des Todes betrifft, so wäre, wie wir gesehen haben, für die Terpentintiere ein geringer, wenn auch praktisch wenig zu bedeutender Vorteil zu verzeichnen; jedoch hat man, wie ich auseinandergesetzt habe, nicht das Recht, dieses der Terpentineinspritzung zuzuschreiben.

An sämtlichen verendeten Tieren wurde die Sektion vorgenommen, wobei die bekannten Befunde der Staphylokokkeninfektion angetroffen wurden. Auch wurde in $^3/_4$ der Fälle dabei eine Kultur angelegt aus Herzblut oder einem Organe, und in allen Fällen, ohne Ausnahme, wurden die Staphylokokken gezüchtet.

Was die Infektionsdosis betrifft, so habe ich anfangs diese nach dem Körpergewicht der Tiere bemessen. Später jedoch erhielten die Tiere immer die gleiche Menge, weil sich bei Versuchen herausstellte, daß die verschiedene Empfindlichkeit für das infektiöse Agens nicht mit dem Gewicht in Zusammenhang gebracht werden konnte, wenn man wenigstens für seine Versuche erwachsene, junge, gleich alte Tiere wählte mit mäßigem Unterschiede im Gewicht.

Nicht nur kann sich ein Unterschied in der Empfindlichkeit bei verschiedenen Arten von Kaninchen zeigen, sondern es besteht auch ein Unterschied bei Individuen der gleichen Art. Individuelle Unterschiede sind unerwünschte Faktoren, aber damit hat man es nun einmal bei Tierversuchen zu tun.

Hätte sich ein nützlicher Effekt der Terpentineinspritzung bei meinen Versuchen gezeigt, so hätte ich es hierbei nicht gelassen. Da das Resultat aber bei den sowohl nach wenigen Tagen, als auch bei den nach verhältnismäßig langer Zeit verendeten Tieren negativ war, habe ich keine Veranlassung gefunden, mehr Tiere und mehr Zeit dieser Frage zu opfern.

Hermstein, der, wie wir gesehen haben, selber feststellt, daß Terpentininjektionen bei puerperaler Sepsis erfolglos sind, nennt eine Reihe von Krankheiten, wobei Terpentin gegeben wurde. Es wurde empfohlen bei Gonorrhöe der Harnröhre und Bindehaut, bei gonorrhoischen Erkrankungen der Sehnenscheiden und Gelenke, bei Hauterkran-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kungen der verschiedensten Art, bei bakteriellen Erkrankungen der Blase und des Nierenbeckens, bei tuberkulösen Erkrankungen der Drüsen, bei Fleckfieber, Ruhr und Typhus, bei Blutungen usw.

II.

Es gibt also Autoren, die bei den verschiedensten Krankheiten Erfolg von Terpentin gesehen haben wollen. Für die günstige Wirkung wird dann eine Erklärung gesucht. Es hat wenig Wert, auf die Erklärungsversuche einzugehen. Anders wird es jedoch, wenn versucht wird, für eine eventuell günstige Wirkung eine Erklärung zu geben, welche man durch Versuche stützen zu können glaubt.

So meint H. J. Hamburger[1]), wie wir sogleich sehen werden, daß durch Terpentineinspritzung die Phagozytose schneller wird. Was nun den von diesem Autor angegebenen befördernden Einfluß des Terpentins auf die Phagozytose betrifft, so kann ich darüber kurz sein:

Der Autor hat sich nämlich bei seinen Versuchen über die Wirkung von Substanzen auf die Phagozytose nicht der üblichen Leishman-Wrightschen Methode bedient. Er zählt die phagozytierten Teilchen nicht, bestimmt aber die Prozentzahl der Leukozyten, die phagozytiert haben, welche Prozentzahl das Maß für den Grad der Phagozytose darstellt. — Ich habe nun auseinandergesetzt, daß diese Methode zum Studium der Wirkung von Substanzen auf die Phagozytose prinzipiell unrichtig ist, und daß die damit erzielten Resultate unzuverlässig sind[2]). Es braucht wohl kaum gesagt zu werden, daß man Resultaten, welche mit einer prinzipiell unrichtigen Methode erzielt worden sind, keine Rechnung zu tragen hat.

Auf eine spätere Veröffentlichung des Autors aber über den Einfluß subkutaner Terpentininjektionen auf die Chemotaxis[3]), habe ich näher einzugehen, weil die Arbeit zu therapeutischen Terpentineinspritzungen anregen könnte, und zwar, meiner Meinung nach, nicht zu Recht. — Der Autor hat sich die Frage gestellt, ob eine günstige Wirkung des Terpentins sich dadurch erklären lassen könnte, daß diese Substanz von der Injektionsstelle aus als schwache Lösung in den Kreislauf käme und dann u. a. auch in den Krankheitsherden die Phagozytose beschleunigen und dadurch den Heilungsprozeß fördern würde. Er sagt, daß sich jedoch in einem Entzündungsherde der Grad der Phagozytose und also eine eventuelle Aktivitätssteigerung der Phagozyten kaum feststellen läßt. Wohl aber meint er, daß dieses mittels chemotaktischer Versuche möglich sei. Dazu verwendete er 2 Methoden:

A. Die erste bestand darin, daß unter die Haut einer Hinterpfote eines Kaninchens, an der Innenseite des Schenkels Kapillarröhrchen angebracht wurden, gefüllt mit Extrakt von Coli-Bakterien in Kochsalzlösung. Diese Extrakte enthielten außerdem eine Spur Terpentin. An die andere Hinterpfote wurden an derselben Stelle die gleichen Röhrchen mit gleichem Inhalt, jedoch ohne Terpentin, angebracht. Nach Ablauf von 20 Std. wurden die Leukozytensäulchen, die sich in den Kapillarröhrchen gebildet hatten, gemessen.

1) Phys.-chem. Untersuchungen über Phagozyten usw. Wiesbaden 1912.
2) Dtsch. med. Wochenschr. 1917. S. 40 u. 1918. S. 470.
3) Kon. Akad. v. Wetensch. te Amsterdam. Deel 22. 1913. p. 580 u. f.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

B. Bei der 2. Methode wurde bei einigen Kaninchen 0,3 ccm Terpentin unter die Brusthaut gespritzt und untersucht, ob in den Kapillarröhrchen mit Bakterienextrakt eine größere Menge Leukozyten eingedrungen waren, als wenn bei denselben[1]) Tieren anstatt Terpentin ein gleiches Quantum Kochsalzlösung eingespritzt worden war (S. 582).

Auf die darauffolgende Beschreibung der Versuche selbst und die Tabellen einzugehen, ist nicht nötig.

Der Autor beschließt den Artikel etwa in folgender Weise: „Man muß also folgern, daß, unserer Hypothese gemäß, Terpentin von der Injektionsstelle allmählich nach verschiedenen Körperstellen weggeleitet worden ist, also auch nach den Blutgefäßen der Pfote, wo die Lymphe mit Terpentin bereichert wurde und einen günstigen Einfluß auf die Chemotaxis ausübte. Wäre diese Vorstellung richtig, so wäre zu erwarten, daß Einspritzung von Terpentin in verdünnter Lösung und einige Male wiederholt ebenfalls die Chemotaxis fördern müßte. Damit wäre dann ebenfalls bewiesen, daß es bei der günstigen therapeutischen Wirkung des Terpentins für den Begriff — abcès de fixation — überhaupt keinen Raum mehr gibt. Gleichfalls könnte dadurch die Anwendung des Terpentins in der menschlichen Pathologie sehr gefördert werden“ usw.

Der Autor sagt dann weiter, daß vorläufige Versuche mit subkutaner Einspritzung von Terpentin in einer Konzentration von 1 : 10 000 in 0,9-proz. Kochsalzlösung tatsächlich gelehrt haben, daß deren Einfluß auf die Chemotaxis günstig, jedoch nicht ansehnlich war. Und schließlich heißt es: „Inzwischen darf in der Erwartung einer zweckmäßigeren Technik der Terpentineinspritzung, wodurch die Anwendung beim Menschen ansehnlicher werden kann, aus den erwähnten Versuchen schon jetzt gefolgert werden, daß Terpentineinspritzung, auch an weit entfernten Stellen, die Chemotaxis fördert. Weiter darf man aus der größeren Beweglichkeit der Phagozyten, worauf ja auch die Verbesserung der Chemotaxis fußt, folgern, daß an jenen Stellen ebenfalls die Phagozytose beschleunigt werden wird.“

Was nun zuerst diese letztere und wichtigste Folgerung betrifft, so ist es nicht schwer, einzusehen, daß dieselbe nicht zu Recht besteht. Wenn wir annehmen, daß wir es hier mit einer verstärkten Chemotaxis zu tun haben, so dürfen wir daraus nicht ohne weiteres folgern, daß auch die Phagozytose beschleunigt wird. Das wäre selbstversiändlich zu beweisen, und von einem solchen Beweise ist hier nicht die Rede.

Und was nun die Chemotaxis betrifft, darf man nun aus diesen Versuchen folgern, daß dieselbe durch Terpentineinspritzung gefördert wird? Wie wir sehen werden, muß auch hierauf die Antwort verneinend lauten. Dazu wird es aber nötig sein, die von dem Autor angewandten Methoden einer Besprechung zu unterziehen. 1. müssen wir uns nun dessen bewußt sein, daß die beiden Methoden nicht zu demselben Zwecke führen. Bei der 2. Methode sind die Verhältnisse nämlich ganz andere, als bei der ersteren. Während bei der 1. Methode die gleichen Leukozyten durch 2 Röhrchen mit verschiedenem Inhalt verschieden beeinflußt werden können, weil sie von der einen Substanz mehr oder weniger angezogen oder abgestoßen werden können als von der anderen, haben wir es bei der 2. Methode mit einer ganz anderen Wirkung zu tun: Hier werden die Leukozyten nicht durch den verschiedenen Inhalt zweier

1) Später wurden dazu verschiedene Kaninchen verwendet (S. 584).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Röhrchen beeinflußt, können jedoch selbst in irgendeiner Weise eine Aenderung erlitten haben, weil man bei einem Tiere Terpentin, bei der Kontrolle aber Kochsalzlösung eingespritzt hatte.

Unter Chemotaxis verstehen wir bekanntlich einen bewegungsrichtenden Einfluß, den gewisse Substanzen auf gewisse bewegliche, lebende Elemente ausüben können. Wir wollen annehmen, wie der Autor, daß Terpentin tatsächlich die Beweglichkeit der Leukozyten verstärkt. Wenn wir nun bei einem damit behandelten Tiere Röhrchen mit Inhalt angebracht haben, wodurch Leukozyten angezogen werden, so ist es sehr erklärlich, daß die beweglicheren Leukozyten des Terpentintieres ein Ziel schneller erreichen können, als die Leukozyten des Kontrolltieres. Die Leukozyten von Tieren, die mit verschiedenen Substanzen eingespritzt worden sind, können dadurch in verschiedener Weise beeinflußt werden und sich infolgedessen verschieden verhalten, auch z. B. Röhrchen mit Bakterienextrakt gegenüber, ohne daß dabei irgendein Unterschied in der Chemotaxis im Spiele zu sein braucht. Wenn man also, wie der Autor, bei den Terpentintieren eine größere Beweglichkeit der Leukozyten annimmt, so läßt sich schon allein aus dieser Tatsache ein eventueller Unterschied in der Länge der Leukozytensäulchen in den Kapillarröhrchen zwischen den Terpentintieren und den Kontrollen erklären, und es liegt kein Grund vor, auf eine Beförderung der Chemotaxis zu schließen.

Es ist wohl überflüssig, noch weiter auseinanderzusetzen, daß diese Methode zum Studium der chemotaktischen Wirkung von Substanzen falsch ist.

Was nun die 1. oben zitierte Methode betrifft, wobei also unter die Haut des einen Hinterschenkels eines Kaninchens Kapillarröhrchen, gefüllt mit Bakterienextrakt, angebracht wurden und am anderen Hinterschenkel Röhrchen mit gleichem Inhalt, aber außerdem eine Spur Terpentin enthaltend, so bin ich, wie ich noch begründen werde, der Ueberzeugung, daß auch diese Methode für genaue wissenschaftliche Studien nicht empfohlen werden kann, sondern im Gegenteil. — Daß die Flüssigkeiten in- und außerhalb der Kapillaren bei chemotaktischen Versuchen den gleichen osmotischen Druck haben müssen, um einem eventuellen mechanischen Eintritt von Objekten vorzubeugen, ist bekannt.

Die ersten Studien über Chemotaxis verdanken wir bekanntlich W. Pfeffer[1]), und es wird nötig sein, einiges aus den Arbeiten dieses Forschers zu zitieren. — Er sagt z. B., daß das Einschwärmen der Samenfäden, mit denen er arbeitete, in die Kapillaren 1 Std. und mehr fortdauerte, und daß sich häufig förmliche Pfropfe von Samenfäden in den Kapillaren bildeten usw. Der Samenfaden steuert von der verdünnteren zur konzentrierteren Apfelsäure, somit nach dem Punkte hin, von welchem aus Apfelsäure sich diffundierend verbreitet usw. Die Spermatozoen gelangen in die, von dem Kapillarende ausgehende Diffusionszone, schreiten in dieser fort, gelangen in immer konzentriertere Lösung, und die die Bewegung nach dem Kapillarraum bestimmende Reizwirkung nimmt ab, weil bei ungestörter Diffusion die Konzentration in der Diffusionszone in gleichmäßiger Weise nach der Kapillaröffnung hin zunimmt.

1) Untersuch. a. d. bot. Inst. zu Tübingen 1884—88.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Unter Beachtung dieser Tatsachen ist es begreiflich, warum öfters Samenfäden eine Schwärmsphäre um den Kapillarmund bilden, ohne reichlich einzudringen, nämlich dann, wenn die Flüssigkeit in der Kapillare die Konzentration der unmittelbar vor dem Kapillarmunde befindlichen Lösung von Aepfelsäure nicht in genügendem Maße übertrifft, um einen Richtungsreiz auszuüben usw.

Warum würde dieses auch bei Versuchen in vivo nicht stattfinden? Es leuchtet ein, wie dadurch der Wert der Länge der Leukozytensäulchen in den Kapillaren beeinflußt werden könnte.

Ferner weist Pfeffer darauf hin, daß die Temperatur der Flüssigkeiten auf dem Objektträger und in der Kapillare übereinstimmen muß, weil sonst Strömungen entstehen können und ein mechanisches Hervortreiben resp. Einsaugen von Flüssigkeit in die Kapillare erzielt werden kann. — Daß man dem auch in Versuchen in vivo Rechnung zu tragen hat, liegt auf der Hand.

Daß jede Erschütterung bei Versuchen über Chemotaxis vermieden werden muß, ist klar, und man braucht bloß die oben zitierten Worte Pfeffers zu lesen, um davon überzeugt zu sein. — Pfeffer weist auch wieder darauf hin, daß Erschütterung bei seinen Versuchen vermieden wurde durch Arbeiten auf einem nicht zitternden Tische.

Daß bei vergleichenden Versuchen über die Größe der chemotaktischen Wirkungen von Substanzen dort, wo die Gelegenheit zu Erschütterungen eine solche ist, wie bei der oben zitierten Methode beim lebenden Kaninchen, von Wissenschaftlichkeit und Genauigkeit nicht die Rede ist, liegt auf der Hand. — Dieser Faktor an und für sich genügt schon, solche Versuche nicht in dieser Weise beim lebenden Kaninchen vorzunehmen. Können nicht auch die Kapillaren jeden Augenblick durch das Gewebe abgeschlossen werden und darauf wieder offen sein? usw. Kurz, es ist klar, daß hier die Möglichkeit zu unkontrollierbaren Faktoren offen steht. — Es ist also nicht möglich, diese Methode als ein zuverlässiges Verfahren zu bezeichnen.

Was hier über die beiden von Hamburger angewandten Methoden gesagt wurde, gilt selbstverständlich nicht nur für Untersuchungen über die Wirkung des Terpentins, sondern ebenso für Versuche über die Wirkung anderer Substanzen, wobei derselbe Autor[1]) diese Methoden anwandte, namentlich für die Versuche über die Wirkung des Kalziums[2]) (S. 92 u. f.). Dasselbe gilt, wie wohl kaum gesagt zu werden braucht, auch für Arbeiten anderer Autoren, soweit sie sich dieser Methoden in der gleichen Absicht bedient haben.

Nach Abschluß dieser Arbeit habe ich Kenntnis genommen von Versuchen einer amerikanischen Autorin E. P. Wolf[3]), die neuerdings den chemotaktischen Einfluß einer großen Zahl chemischer Substanzen auf die Leukozyten in vitro untersucht hat mit Hilfe der von ihr einigermaßen geänderten A. E. Wrightschen[4]) Methode. Ich kann hierauf nicht weiter eingehen. Daß diese Autorin u. a. auch Terpentin und Kalzium (mit Ausnahme des Zitrates) positiv chemotaktisch fand. ändert selbstverständlich an unseren Ausführungen nichts.

---

1) l. c.
2) Rektale Einverleibung anstatt subkutaner.
3) Journ. of exper. med. Vol. 34. 1921.
4) Lancet. 1918.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mit Bezug auf die chemotaktische Wirkung von Substanzen im allgemeinen möchte ich bloß noch eine einzige Bemerkung machen. Man kann nämlich kaum vorsichtig genug sein mit den daraus zu ziehenden Folgerungen in praktischer Hinsicht. Sehr häufig mag z. B. positive Chemotaxis ein zweckmäßiger Drang der betreffenden beweglichen Objekte sein; man hat aber zu bedenken, daß man dieses bei weitem nicht immer annehmen darf, Wir wissen u, a., daß es im allgemeinen die für die Mikroben günstigen Nährstoffe sind, welche positiv chemotaktisch wirken, während schädliche Momente meist eine abstoßende Wirkung ausüben. Doch trifft dies keineswegs durchgängig zu.

Die Verhältnisse bei Leukozyten sind andere, der Begriff der Zweckmäßigkeit bei den im Dienste des tierischen Organismus stehenden weißen Blutzellen ist ein ganz verschiedener; auch hierbei haben wir nicht das Recht, jede positiv chemotaktische Wirkung ohne weiteres als etwas Zweckmäßiges zu bezeichnen.

Schlußfolgerungen.

I. Bei meinen Versuchen mit mit Staphylokokken infizierten Kaninchen habe ich mit Bezug auf den Ausgang der Krankheit keine günstige Beeinflussung durch die subkutane Terpentininjektion festzustellen vermocht. — II. Aus den oben von mir zitierten Versuchen darf nicht gefolgert werden, daß subkutane Injektionen von Terpentin die Phagozytose befördern. — III. Die 1. oben zitierte chemotaktische Methode (cf. A), wobei also unter der Haut einer Hinterpfote eines Kaninchens Kapillarröhrchen angebracht werden, welche die zu untersuchende Substanz enthalten, während die Röhrchen im anderen Schenkel dieselbe nicht enthalten, kann nicht als ein zuverlässiges Verfahren bezeichnet und deren Anwendung muß widerraten werden. — IV. Bei der 2., oben zitierten Methode (cf. B) wird Kaninchen eine gewisse Substanz eingespritzt und untersucht, ob in den unter der Haut angebrachten Kapillarröhrchen eine größere (bzw. kleinere) Menge von Leukozyten eingedrungen ist, als wenn ein gleiches Quantum Kochsalzlösung eingespritzt worden war. Diese zum Studium der chemotaktischen Wirkung von Substanzen angewandte Methode ist falsch und also nicht brauchbar.

Nachdruck verboten.

Ueber Gärungsagglutination und Gärungsbakterizidie.

[Aus dem Bakteriologischen Institut in Kiew.]

II. Mitteilung [1]).

Von Dr. **B. Klein.**

Als Gärungsagglutination haben wir in unserer vorigen Mitteilung eine Agglutination bezeichnet, welche ohne Zusatz von

1) Klein und Slesarewski, Ueber Agglutination bei Gärungen usw. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 88. H. 2). — Klein, Zur Frage der Gärungsagglutination (Ebenda. H. 7/8.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Antikörpern oder künstlich hergestellten Säurelösungen, sozusagen „spontan", eintritt, wenn infolge der Lebenstätigkeit der Bakterien die in den Nährmedien enthaltenen Kohlehydrate unter der Bildung von Säuren zerspaltet werden. Da für die Bakterienzellen in der Reihe der Kohlehydrate besonders leicht der Traubenzucker angreifbar ist, so kann in erster Linie die Gärungsagglutination in flüssigen Nährmedien mit Glukose beobachtet werden.

Wie aus unseren früheren Mitteilungen hervorgeht, gelangen verschiedene Vertreter der Typhus-Coli-Gruppe und andere Bakterienarten, wie B. Proteus, Staphylokokken und sogar Choleravibrionen, regelmäßig zur Gärungsagglutination.

In dieser Mitteilung wird nun bewiesen, daß nicht nur mit Glukose, sondern auch mit einer ganzen Reihe von anderen Kohlehydraten die Gärungsagglutination zu beobachten ist. Die Versuche mit den Kohlehydraten Maltose, Lävulose, Arabinose, Milchzucker, Mannose, Saccharose, Isodulzit (Rhamnose), Erythrit, Inulin und Mannit ergaben, daß in flüssigen Nährmedien mit Zusatz von Kohlehydraten die Bakterienarten, welche die genannten Kohlehydrate zu spalten imstande sind, immer zu einer gut ausgesprochenen Agglutination gelangen. In den Fällen, wo die Zuckerart von den Bakterien nicht angegriffen wird, bleibt die Agglutination aus.

Die Gärungsagglutination ist am deutlichsten in Peptonwasser mit 2 Proz. Glukose und 5—6-proz. Lackmuslösung zu beobachten. Günstige Nährböden für die Gärungsagglutination können auch Peptonwasser (ohne Lackmus) oder sogar eine einfache, schwach alkalische Bouillon sein, wenn zu denselben 2 Proz. der entsprechenden Kohlehydrate hinzugefügt werden.

Die vorliegenden Untersuchungen sind ausschließlich in schwach alkalischer Bouillon mit Zusatz von 2 Proz. der oben genannten Kohlehydrate ausgeführt worden[1]).

Wir benutzten zu unseren Untersuchungen 17 Bakterienstämme, nämlich: 8 Stämme B. coli, 3 B. typhi, 2 B. Proteus, 1 Dysenterie- (Shiga-Kruse) und 3 Staphylokokkenstämme. Zuerst sind hier diejenigen Versuche zu erwähnen, welche den Beweis erbringen dürften, daß die Gärungsagglutination tatsächlich in Zusammenhang mit der Säurebildung steht. Wir impften zu diesem Zwecke mehrere Stämme (coli 1, 2, 7, typhi II und Staphylococcus 4) in glukosehaltige, schwach alkalische Bouillon mit Zusatz von 5—6-proz. Lackmuslösung. Nach 8- und 20-std. Bebrütung neutralisierten wir die beimpften Röhrchen tropfenweise zweimal mit 10-proz. wasserfreier Soda, bis der rote Farbenton sich wieder in den blauen umgeändert hat. Ein Teil der beimpften Röhrchen wurde zur Kontrolle nicht neutralisiert. Die Resultate waren folgende:

Während in den 6 nicht neutralisierten Röhrchen nach 24 bis 36 Std. eine ausgezeichnete Agglutination eintrat und die rot gefärbten Bakterienklümpchen sich am Boden des Reagenzglases absetzten, zeigte sich unter den 10 neutralisierten Röhrchen in 6 Röhrchen keine oder fast keine Agglutination, in 4 aber sehr schwache.

Hieraus ergibt sich, daß die Gärungsagglutination wesentlich von der Säurebildung abhängt.

---

1) Alle unsere Kohlenhydrate wurden von Merck oder Kahlbaum bezogen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Weitere Versuche wurden mit verschiedenen Stämmen von B. coli in allen oben erwähnten Kohlehydraten ausgeführt.

B. coli commune. Unsere 8 Coli-Stämme waren folgender Herkunft: Nr. 1 ein alter, lange fortgezüchteter Laboratoriumsstamm, Nr. 2 aus Fäzes frisch gezüchtet, Nr. 3 aus solchen eines Kaninchens, Nr. 4, 5, 7, 9, 10 frisch aus Kinderstuhl gezüchtet. Impft man einen Coli-Stamm in sehr schwach alkalische Bouillon mit Zusatz von 2 Proz. Traubenzucker ein, so kann man am folgenden Tage nach 20 bis 24-stünd. Bebrütung bei 37° eine selbständige spontane Agglutination der Bakterien beobachten. Davon, daß es sich hier um keine gewöhnlichen Niederschläge, sondern um agglutinierte Bakterienklümpchen handelt, kann man sich leicht bei der mikroskopischen Untersuchung überzeugen. Im hängenden Tropfen sowie im gefärbten Präparat finden sich viele zusammengeballte Bakterien von der Art, wie man sie bei der spezifischen Agglutination beobachtet. Am Boden des Reagenzglases bildet sich ein Niederschlag, welcher aus agglutinierten Bakterien besteht. Nach 3—4 Tagen tritt vollständige Aufhellung der Bouillon unter Bildung eines agglutinierten Bodensatzes ein.

Daß diese Verklumpung der Bakterien als eine Säureagglutination zu erklären ist, wird durch die Untersuchungen Burows[1]) gezeigt, der bei einem Coli-Stamm und bei einigen Paratyphus-Stämmen das Auftreten einer Ausflockung in Glukosepeptonwasser beschrieben hat. Burows Messungen mittels der kolorimetrischen Methode nach Sörensen ergaben für p^H einen Wert: 3,6—4,2, während die Ausflockungszone mit Azetatgemischen nach Michaelis sich von 4,39—3,49 erstreckte, mit Ausnahme des Coli-Stammes, der erst bei $p^H = 3{,}79$ Ausflockung zeigte.

Wie erwähnt, war die Gärungsagglutination der Coli-Stämme besonders leicht in glukosehaltigen Nährböden zu erzielen, etwas schwächer in Bouillon mit Lävulose oder Mannose. Nach 24 Std. bildeten sich aber auch hier gut agglutinierte Niederschläge und viele Klümpchen. Erst nach 7 Tagen trat vollständige Aufhellung der Bouillon unter Bildung eines reichlichen agglutinierten Bodensatzes ein.

Weniger deutlich war die Agglutination nach 24 Std. in Maltose und Milchzucker. Nach 7 Tagen waren alle Stämme auch in diesen Zuckerarten ausgesprochen agglutiniert.

In Arabinose und Saccharose trat die Verklumpung später ein; und zwar nach 24 Std. erst bei einzelnen Stämmen, nach 7 Tagen aber deutlich bei allen Stämmen in Arabinose und nur bei 3 Stämmen in Saccharose.

In Mannit ergaben positive Resultate nach 24—48 Std. 4 Stämme, bei 1 Stamme trat keine Agglutination ein.

In Isodulzit (Rhamnose) agglutinierten nach 24 Std. 3 Stämme, bei 2 waren die Resultate negativ, nach 7 Tagen bei 4 Stämmen positiv.

Am spätesten trat die Agglutination in Inulin ein, und zwar nur bei 2 Stämmen, während 3 Stämme negative Resultate ergaben. Nach 7 Tagen trat die Agglutination bei 4 Stämmen ein.

Endlich war in Erythrit bei allen untersuchten Stämmen fast keine Agglutination zu sehen und nur bei 2 Stämmen war kaum eine Andeutung von Verklumpung zu bemerken.

---

1) Burow, Fermentative Leistungen der Bakterien Paratyphi A u. B. usw. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 86. H. 7/8.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Besonderer Beachtung wert erschienen uns die Ergebnisse der Einimpfung der Coli-Stämme in Milch. Wir haben in 5 Röhrchen sterilisierter Milch 5 Coli-Stämme (Nr. 1, 2, 7, 9, 10) in großer Menge eingeimpft (je $^1/_2$ Agarkultur in physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt). Nach 2 Tagen trat in allen Röhrchen kräftige Gerinnung der Milch ein und am Ende des 5. Tages waren alle 5 Stämme in der koagulierten Milch ausgesprochen agglutiniert. Wir entnahmen mit einer Pipette am Boden eines jeden Röhrchens je einige Tropfen und untersuchten dieselben im hängenden Tropfen sowie im gefärbten Präparat. In allen Fällen war die Agglutination vortrefflich. Es ist also die Möglichkeit der Agglutination nicht nur in künstlichen Nährböden, sondern auch in natürlichen, wie Milch, erwiesen.

B. typhi. 3 Typhusstämme (I, II und W) wurden in Bouillon mit 2 Proz. der oben erwähnten Kohlehydrate beimpft, und es konnte ausgesprochene Agglutination in Glukose, Lävulose, Arabinose, Mannit, Saccharose, Mannose und Rhamnose beobachtet werden. Impften wir einen Typhusstamm in Traubenzuckerbouillon und gleichzeitig in gewöhnliche schwach alkalische Bouillon (ohne Traubenzucker) ein und untersuchten nach 8 Std. im hängenden Tropfen, so war in beiden Fällen lebhafte Selbstbewegung der Bakterien bemerkbar. Nach 12 Std. findet man im hängenden Tropfen aus Traubenzuckerbouillon viele bewegliche Bakterien und daneben in jedem Gesichtsfelde kleine, zarte Niederschläge, welche aus einer homogenen Grundsubstanz und in derselben eingeschlossenen feinen Körnchen und unbeweglichen Bakterien bestehen. In gewöhnlicher Bouillon ohne Traubenzucker sind solche Gebilde nicht zu sehen. Nach 20—24 Std. nimmt die Zahl dieser Klümpchen in Traubenzuckerbouillon zu und nach 36 Std. sieht man in jedem Gesichtsfelde viele Klümpchen, welche unbewegliche Bakterien in sich enthalten. Makroskopisch äußert sich diese Verklumpung durch die Bildung von größeren agglutinierten Niederschlägen, welche sich teilweise am Boden des Reagenzglases absetzen.

In Milchzucker, der von den Typhusbakterien nicht angegriffen wird, war die Agglutination negativ, ebenso in Maltose, Erythrit und Inulin.

Der von uns untersuchte Stamm Paràtyphi A wurde in Glukose, Arabinose, Lävulose, Mannit, Saccharose, Mannose, Isodulcit agglutiniert, nicht aber in Maltose, Erythrit und Rhamnose.

Der Stamm Paratyphi B wurde in Glukose, Lävulose und sehr schwach in Arabinose und Mannit agglutiniert. Der Shiga-Kruse-Stamm agglutiniert sich nur in Glukose, nicht aber in anderen Kohlehydraten.

Die Staphylokokken-Stämme agglutinierten fast in allen Kohlehydraten, und nur in Mannit blieb die Agglutination bei 2 Stämmen aus.

Fassen wir alle obigen Untersuchungen zusammen, so zeigt sich, daß auch außerhalb des Organismus in vitro in kohlehydrathaltigen Nährlösungen verschiedene Bakterien befähigt sind, chemisch wirkende Substanzen zu erzeugen, welche in der Regel eine deutliche Agglutination derselben Bakterien hervorzurufen imstande sind. Daß diese Agglutination eine weit verbreitete Erscheinung darstellt, haben unsere Untersuchungen in künstlichen Nährlösungen mit allen genannten Kohlehydraten sowie in natürlichen Nährböden, wie Milch, bewiesen.

Es war nun auch von Interesse, das weitere Schicksal dieser agglutinierten Bakterien zu verfolgen und die Lebensfähigkeit derselben in den erwähnten Kohlehydraten zu untersuchen. Während über die Gärungsagglutination in der Literatur nur sehr sparsame Hinweise zu finden sind, enthält dieselbe bezüglich der bakterienschädigenden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wirkungen der bei den Gärungen entstehenden Säuren viele Angaben. Ohne auf die ältere Literatur der Frage näher einzugehen, beschränken wir uns in dieser kurzen Mitteilung nur auf den Hinweis in Kruses „Allgemeine Mikrobiologie“ [1]).

An dieser Stelle sei insbesondere die Anschauung von Michaelis erwähnt [2]), der eine bemerkenswerte automatische Regulationsvorrichtung annimmt, welche sich in folgendem äußert: Michaelis und Marcora [3]) ließen B. coli in milchzuckerhaltiger Nährbouillon wachsen und fanden, daß die Milchsäurebildung stets bis zu einer $[H\cdot] = 1{,}10^{-5}$ fortschreitet und bei dieser $[H\cdot]$ welche durch das B. coli ohne Schaden vertragen werden kann, eine weitere Milchsäurebildung nicht stattfinden kann. Darin erblickt Michaelis eine Schutzvorrichtung der Mikroorganismen gegenüber der Bildung schädlicher Säuremengen.

Dagegen fand Ischii [4]), daß in Peptonwasser mit Traubenzucker, Lacktose, Mannit usw. ein Absterben der Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe innerhalb 3—10 Tagen stattfindet. Verzár und Bägel [5]) zeigten, daß in 1-proz. Traubenzucker ein Säuremaximum erreicht wird, bei dem die Kulturen absterben. Scheer [3]) hat festgestellt, daß der bakterizide Wert, ($p^H = 4{,}6$) bei der Säurebildung in zuckerhaltigen Nährflüssigkeiten durch das B. coli sogar erreicht und überschritten wird, so daß die Bakterien in zuckerhaltiger Bouillon innerhalb einer gewissen Zeit sich selber abtöten.

Wir stellten uns daher die Aufgabe, diese bakterizide Wirkung im Zusammenhange mit der Agglutination zu untersuchen, und konnten beobachten, daß in denjenigen Kohlehydraten, in welchen die Bakterien agglutiniert werden, auch in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle eine verhältnismäßig frühere Abtötung der Bakterien eintritt, als in Nährböden ohne Kohlehydrate.

Wir haben gleichzeitig in schwach alkalischer Bouillon mit 2-proz. Glukose und in Bouillon ohne Glukose die folgenden Kulturen eingeimpft: B. typhi 40, F, W, B. paratyphi B II, B. dysenteriae Shiga-Kruse, B. coli commune, B. Proteus 19 und Staphylococcus pyogenes aureus. Nach 1—2 Tagen trat eine gut ausgesprochene Agglutination in allen Röhrchen mit Glukose ein, und nach 14 Tagen machten wir eine Aussaat aus diesen Röhrchen in Petri-Schalen auf erstarrtem, schwach alkalischem Agar.

Die Resultate sind aus dem Folgenden ersichtlich:

Deutliche Agglutination (++ oder +++) bei allen erprobten Stämmen. Die Ueberimpfungen blieben steril bei Typh. 40, Typh. W, Parat. B II, B. dys. und B. coli; Typh. F ergab 27 Kolonien, B. Proteus 18 Kolonien, Staphyl. viele Kolonien.

Hieraus ist zu ersehen, daß die bakterizide Wirkung der durch die Bakterien in zuckerhaltigen Nährböden gebildeten Säuren sich in stetem Zusammenhange mit der Agglutination befindet, und zwar tritt zuerst Agglutination ein und dann die bakterizide Wirkung.

Die gleichzeitig angestellten Versuche mit einfacher Bouillon ohne Glukose ergaben keine Agglutination und die nach 14 Tagen gemachte Aussaat auf schwach alkalischen Agar ergab bei allen Kulturen eine unzählbare Menge ausgewachsener Kolonien.

---

1) Kruse, „Allgemeine Mikrobiologie“. 1910. S. 157 usw.

2) Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration. 1914. S. 112 u. 113.

3) Michaelis u. Marcora, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 14. 1912.

4) Ischii, Journ. of Bacteriol. 1920; zit. nach d. Refer. im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 71. S. 534.

5) Verzár u. Bägel, Biochem. Ztschr. 1920; zit. nach d. Refer. im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 71. S. 549.

6) Scheer, Die Wasserstoffionenkonzentration und B. coli. (Biochem. Ztschr. 1922.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die andere Versuchsreihe bestand in Einimpfungen von 10 Kulturen (5 Coli-Stämme, 2 Typhusstämme, 1 Paratyphus A-, 1 Shiga-Kruse- und 1 Staphylococcus-Stamm) in Bouillon mit Glukose, Saccharose, Lävulose, Milchzucker, Maltose, Arabinose, Mannose, Mannit, Isodulct und Inuilin. Nach 1—2 Tagen haben wir die Agglutination beobachtet und überimpften nach 7 Tagen aus den Röhrchen mit zuckerhaltiger Bouillon auf erstarrtem Agar in Petri-Schalen. Einige der erhaltenen Resultate sind hier zusammengestellt[1]):

Coli 3. Deutliche Agglutination (++ oder +++) in Milchzucker, Maltose, Arabinose, Mannit, Saccharose, Inulin, Ueberimpfungen steril aus allen diesen Zuckerarten, außer Inulin, worin viele Kolonien gewachsen sind. Keine Agglutination in Erythrit; die Ueberimpfung ergab unzählbare Kolonien.

Coli 1. Deutliche Agglutination in Milchzucker, Maltose, Arabinose, Mannit, keine Agglutination oder nur Andeutung in Saccharose, Erythrit, Inulin. Ueberimpfungen steril aus den ersteren 4 Zuckerarten, unzählbare Kolonien in Saccharose, Erythrit, Inulin.

Coli 2. Deutliche Agglutination (++ oder +++) in Milchzucker, Maltose, Arabinose, Saccharose. Ueberimpfungen steril. Keine Agglutination oder nur Andeutung in Mannit, Erythrit und Inulin; Ueberimpfungen ergaben unzählbare Kolonien.

Typh. W. Deutliche Agglutination (++ oder +++) in Mannit, Saccharose, Arabinose. Ueberimpfungen steril. Keine Agglutination in Milchzucker, Maltose, Erythrit, Inulin, Ueberimpfungen ergaben unzählbare Kolonien.

Typh. II. Deutliche Agglutination (++ oder +++) in Mannit und Saccharose, Ueberimpfung steril in Mannit, in Saccharose viele Kolonien. Keine Agglutination in Milchzucker, Maltose, Arabinose, Erythrit, Inulin, dementsprechend ergaben die Ueberimpfungen unzählbare oder viele Kolonien.

Mit einigen Ausnahmen zeigen diese Angaben, daß im allgemeinen eine stark ausgesprochene bakterizide Wirkung in denjenigen Kohlehydraten zu bemerken ist, wo deutliche Agglutination eintritt.

In den Fällen ohne Agglutination ergaben die Ueberimpfungen meistenteils unzählbare Kolonien.

In Lävulose, Mannose, Isodulcit konnten wir neben deutlicher Agglutination auch eine ausgesprochene bakterizide Wirkung für Coli- und Typhus-Stämme beobachten. — Aehnliche Resultate erhielten wir mit den anderen Stämmen (Paratyphi A, Paratyphi B). Die Ueberimpfungen aus Glukose, Mannit, Mannose, Lävulose, wo Agglutination zu beobachten war, blieben steril; aus Inulin, Erythrit, Milchzucker und Maltose, wo meistenteils keine Agglutination zu beobachten war, sind bei den Ueberimpfungen viele Kolonien ausgewachsen.

Die Staphylokokken, welche fast in allen erwähnten Zuckerarten agglutiniert wurden, haben sich bei den Ueberimpfungen nach 7 Tagen als sehr widerstandsfähig gezeigt und auf erstarrtem Agar sind sehr viele Kolonien gewachsen.

Jedenfalls konnten wir bei verschiedenen Vertretern der Typhus-Coli-Gruppe keine Schutzvorrichtung im Sinne von Michaelis und Marcora bemerken, und in allen erwähnten Kohlehydraten, wo infolge der gebildeten Säuren eine gut ausgesprochene Agglutination zu beobachten war, konnte sehr oft eine vollständige Abtötung der Bakterien konstatiert werden.

Zusammenfassung.

1) Stoffe mit agglutinierenden und bakteriziden Eigenschaften werden nicht nur als Antikörper vom tierischen Organismus in seinem Kampfe gegen die eingedrungenen Bakterien erzeugt, sondern in gleicher Weise begegnen wir der Bildung solcher Stoffe auf dem Gebiete der Gärungsvorgänge, wenn die Bakterien in Berührung mit Kohlehydraten kommen. Hier entstehen, dank der eigenen Lebenstätigkeit der Bak-

1) Unsere Tabellen können an dieser Stelle nicht gedruckt werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

terien, in vitro chemische Substanzen (Säuren), deren Wirkung auf die Bakterien in derselben Reihenfolge erfolgt, wie die der Antikörper: zuerst Agglutination und dann Bakterizidie.

2) Die Vertreter der Typhus-Coli-Gruppe, sowie andere Bakterien (B. Proteus, Staphylokokken) gelangen zu einer selbständigen Agglutination in Nährmedien mit verschiedenen Kohlehydraten (Peptonwasser oder Bouillon). In dieser Richtung wurden von uns die folgenden Kohlehydrate geprüft: Glukose, Lävulose, Arabinose, Mannit, Saccharose, Mannose, Rhamnose, Milchzucker, Maltose, Erythrit und Inulin.

Coli-Stämme agglutinierten mehr oder weniger deutlich in allen erwähnten Kohlehydraten (mit Ausnahme von Erythrit)[1]).

Typhusstämme agglutinierten in den 7 ersteren Kohlehydraten, nicht aber in Milchzucker, Maltose, Erythrit und Inulin.

B. dysenteriae agglutinierte in Glukose, die Staphylokokkenstämme aber fast in allen erwähnten Kohlehydraten.

3) Werden die geimpften glukosehaltigen Nährlösungen nach 8- und 20-stünd. Bebrütung vorsichtig neutralisiert, so bleibt die Agglutination aus oder sie wird wesentlich verhindert, ein Beweis dafür, daß die Gärungsagglutination durch die aus den Kohlehydraten gebildeten Säuren hervorgerufen wird.

4) Deutliche Gärungsagglutination zeigen auch die in Milch geimpften Coli-Stämme.

5) In stetem Zusammenhange mit der Gärungsagglutination steht die Gärungsbakterizidie; die Bakterien werden nach 7—14 Tagen meistenteils in denjenigen Kohlehydraten abgetötet, in welchen gut ausgesprochene Agglutination zu beobachten ist. In den Kohlehydraten, wo keine Agglutination zu bemerken ist, bleibt auch die Bakterizidie aus. Dementsprechend werden Coli-Stämme in Glukose, Milchzucker, Maltose, Arabinose, Mannit nach 7 Tagen vollständig abgetötet; eine deutliche bakterizide Wirkung ist auch in Lävulose, Mannose und Isodulcit zu bemerken, nicht aber in Erythrit.

Typhusstämme sterben ab in Glukose, Mannit, Lävulose, Mannose, Isodulcit, nicht aber in Milchzucker, Maltose, Erythrit und Inulin.

B. dysenteriae stirbt ab in Glukose. Paratyphus A und B in Glukose, Mannit, Mannose, Lävulose, nicht aber in Inulin, Erythrit, Milchzucker und Maltose.

Das oben geschilderte Verhalten kann variieren nicht nur je nach der Art der Bakterien, sondern auch mit jedem einzelnen der untersuchten Stämme.

6) Eine automatische Schutzvorrichtung der Bakterien gegen die gebildeten Säuren konnte in unseren Versuchen nicht beobachtet werden; die Bakterien werden sehr oft in den erwähnten Kohlehydraten vollständig abgetötet und die Ueberimpfungen bleiben steril.

1) Selbstverständlich handelt es sich hier nur um die bei unseren Versuchen erprobten Stämme.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber eine handliche anaërobe Kulturmethode mit Oberflächenwachstum.

[Aus dem Pathol.-anatom. Institut der Universität in Wien.]

Von **Otto Saphir.**

Mit 1 Abbildung im Text.

Um Oberflächenkulturen anaërob im Plattenverfahren zum Wachstum zu bringen, sind in den einzelnen Laboratorien die verschiedensten Methoden im Gebrauch[1]): der Ausschluß der Luft, die mechanische Entfernung derselben, die Absorption des Sauerstoffes auf chemischem Wege und der Ersatz der Luft durch ein indifferentes Gas.

Die gebräuchlichste Art, anaërobe Kulturen mit Oberflächenwachstum darzustellen, ist heute wohl überall — von der Luftpumpe abgesehen — die chemische Absorption des Sauerstoffes der Luft durch alkalische Pyrogalluslösung. Buchner[2]) hat einen Apparat angegeben, der auf diesem Prinzip beruht, ebenso Slupsky[3]), Hammer[4]), Lentz[5]), Turro[6]), Klein[7]), Emmerling[8]), Löwy[9]) u. a. Wir im Institut wendeten bis jetzt immer letzteres Verfahren an und hatten ziemlich gute Erfolge damit gehabt. Jedoch hat diese Methode 2 Nachteile, von denen mindestens einer allen bisher angegebenen Modifikationen zukommt:

1) Man braucht eine eigene, nicht gerade billige Apparatur dazu.

2) Man kann nie schnell genug verhindern, daß Sauerstoff der äußeren Luft in wachstumstörender Weise nachströmen kann. Denn der von Löwy angegebene Apparat besitzt eine Oeffnung, durch welche Kalilauge einfließen muß, die den Absorptionsprozeß sofort einleitet. Diese Oeffnung wird natürlich erst nach Einleiten der Kalilauge — nachdem also die chemische Absorption bereits begonnen hat — verschlossen, was reichlich Ursache für Fehlerquellen ist.

Diese Nachteile werden nun durch folgende Modifikation behoben:

Ich benutze 2 gewöhnliche Petri-Schalen, deren Umfang gleich groß sein muß, d. h. sie müssen sich, mit ihren Kanten aufeinander gelegt, vollständig decken. Petri-Schalen, wie sie in den gangbaren Größen in Gebrauch sind, sind in jedem Laboratorium vorhanden, und man findet leicht 2, die diesen Anforderungen entsprechen.

Eine der beiden Schalen wird nun durch einen dünnen Pappendeckel, ungefähr in Korrespondenzkartendicke, in 2 Teile geteilt, die sich

1) Heim, Lehrbuch der Bakteriologie. S 133.
2) Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. S. 149.
3) Centralbl. f. Bakt. Bd. 30. 1901. H. 10.
4) Centralbl. f. Bakt. Bd. 31. 1902. H. 12.
5) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 53. 1910. H. 3.
6) Centralbl. f. Bakt. Bd. 31. 1902. H. 4.
7) Centralbl. f. Bakt. Bd. 24. 1898.
8) Hyg. Rundsch. Jhrg. 14. 1904. Nr. 10.
9) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919. H. 6.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wie 1 : 3 verhalten sollen. Der Vorteil des Pappendeckels ist der, daß er nicht sofort, sondern erst nach ca. ½ Std. für die zu verwendende Kalilauge durchgängig wird, d. h. der Absorptionsprozeß setzt langsam ein. Um ein Umfließen des Pappendeckels zu vermeiden, wird derselbe rechtwinkelig umgebogen, so daß eine Fläche die Trennungsfläche bildet, die andere auf den Boden der Platte zu liegen kommt.

Hierauf werden, am besten mit Plastilin, die seitlichen Ränder des Pappendeckels an die Petri-Schale angelötet, wodurch die Schale in 2 vollständig voneinander getrennte Räume geteilt wird. Durch diese Trennungsfläche nun wird jener Nachteil, der durch den allzu rasch einsetzenden Absorptionsprozeß der früheren Arbeitsmethoden bedingt ist, behoben.

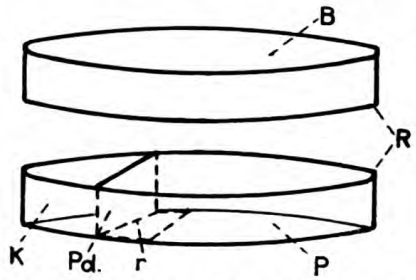


Fig. 1. *B* Beschickte Platte, *R* Berührungsrand der Platte, *Pd* Pappendeckel, *r* umgebogener Rand, *K* Kalilauge, *P* Pyrogallussäure.

Nunmehr wird der größere Teil der Platte mit fester Pyrogallussäure gefüllt, in den kleineren kommt 50-proz. Kalilauge, und die Platte ist gebrauchsfähig.

Auf die 2. Petri-Schale, die auf die 1. paßt und die bereits den Nährboden enthält, wird die betreffende Kultur ausgestrichen. Jetzt stellt man die beschickte Schale auf die 1., welche mit Kalilauge und Pyrogallussäure gefüllt ist, und verbindet die Berührungsflächen mit Heftpflaster, Guttapercha oder Plastilin luftdicht miteinander. Nach ca. ½ Std. dringt die Kalilauge durch die Trennungsebene in die Pyrogallussäure ein und nun wird der ganze Sauerstoff in dem vollkommen abgedichteten Raum langsam absorbiert.

Ich habe Versuche mit Gasbrand, Tetanus, malignem Oedem, anaëroben Streptokokken angestellt und immer bis 48 Std. reges Wachstum konstatieren können.

Die Vorteile dieser Methode sind die, daß sie überall ohne Apparatur angewendet werden kann, daß sie ganz geringe Kosten verursacht und daß sie schließlich größere Aussichten auf positive Resultate gewährleistet. Außerdem ist diese Modifikation einfacher und handlicher und aus diesen Gründen empfehlenswert.

Nachdruck verboten.

Das Polyagglutinoskop.

Von Dr. **Alfred Korach**, Stadtarzt in Berlin.

Mit 2 Abbildungen im Text.

Bei der Benutzung des Kuhn-Woitheschen Agglutinoskops ist es nicht möglich, in schneller Folge mehr als zwei serologische Verdünnungen miteinander zu vergleichen. Das Auswechseln der Röhrchen und das häufige Akkommodieren stören die Beobachtung.

Durch mein „Polyagglutinoskop", das ich in der Sitzung der Berliner Mikrobiologischen Gesellschaft am 24. 3. 1922 demonstriert

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

habe[1]), wird eine Besichtigung und ein Vergleich sämtlicher Verdünnungen und Kontrollen, die zu einer Reaktionsreihe gehören, in unmittelbarer, schneller Folge ermöglicht; die zeitlichen Intervalle zwischen den Beobachtungsphasen werden auf ein Minimum beschränkt. Dadurch gestaltet sich die Diagnose, insbesondere die Titerbestimmung, leichter und sicherer.

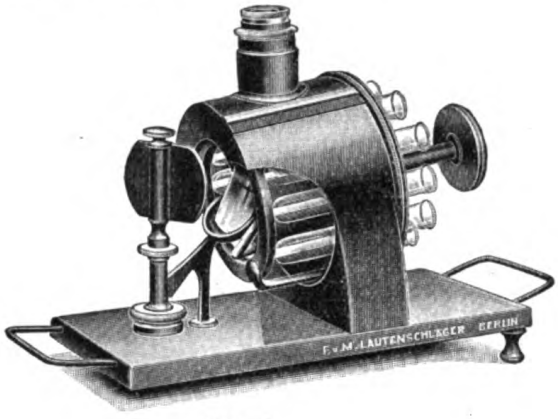


Fig. 1.



Fig. 2.

Die Fig. 1 zeigt den Apparat in Gebrauchsstellung. Er ruht auf einer Fußplatte, die ein in schwach geneigter Stellung starr gelagertes, trommelförmiges Gehäuse trägt. Eine Stellschraube, die sich an der Fußplatte befindet, vermag die Neigung zu verändern. In das Gehäuse wird zur Vornahme der Untersuchungen ein ebenfalls trommelförmiges, metallenes Reagenzglasgestell eingesetzt, das 10 Röhrchen in kreisförmiger Anordnung aufnimmt. Die unteren Enden der Röhrchen ruhen auf einem mit Gummipolster versehenen Stützring; ein Zerbrechen der Gläser beim Einsetzen wird so verhindert. Ein Zylinder mit Ausschnitten dient zur Abblendung von Nebenlicht. Unterhalb des Stützringes befinden sich 3 halbkugelförmige Füße, die einen festen Halt des Gestells verbürgen. Die Einsatztrommel ist mit einem Handgriff versehen, der die Drehung leicht ermöglicht. Die Beobachtung geschieht durch eine 6mal vergrößernde Lupe, die von Hand einstellbar ist. Der Rohrstutzen, der die Lupe beherbergt, ist auf einer Platte gelagert, die über dem Gehäuse verschoben werden kann, so daß eine Besichtigung der verschiedenen Schichten der Agglutinationen gewährleistet ist. Mittels zweier Spiegel, von denen einer in den Hohlraum des Reagenzglasgestells hineinragt, erfolgt die Beleuchtung des Röhreninhalts durch Tages- oder Lampenlicht. Die Anordnung zweier Spiegel, von denen der eine Hilfsspiegel ist, erfolgt, um dem Apparat eine bequeme Gebrauchsstellung zu geben.

Der Apparat wird in der Weise gehandhabt, daß das mit gefüllten Reagenzgläsern beschickte trommelförmige Gestell, das anstatt der üblichen Reagenzglasgestelle auch zur Verwendung im Brutschrank bestimmt ist, in das Gehäuse hineingesetzt und mit Hilfe des Handgriffs dann absatzweise gedreht wird. Der diagnostizierende Arzt ist imstande, sämtliche zu einer Reaktionsreihe gehörigen Verdünnungen und Kontrollen unmittelbar nacheinander zu untersuchen und miteinander

1) Klin. Wochenschr. Jahrg. I. 1922. H. 18. Berichterstatter H. A. Gins.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu vergleichen, ohne daß er hierbei eine Pause eintreten zu lassen, die Röhrchen auszuwechseln oder mit dem untersuchendem Auge neu zu akkommodieren braucht. Nach Beendigung der Untersuchung einer Reaktionsreihe wird das verwendete Reagenzglasgestell mit den Gläsern zusammen aus dem Apparat herausgenommen und durch ein anderes gefülltes Gestell ersetzt, so daß eine beliebig große Zahl verschiedener Untersuchungen unmittelbar hintereinander vorgenommen werden kann.

Als wesentliche Vorzüge des neuen Polyagglutinoskops können folgende Momente gewertet werden:

1) Vornahme von Reihenuntersuchungen in schneller Folge; 2) ruhige Beobachtung ohne Akkommodationsanstrengung; 3) optimale Bedingungen für die Titerbestimmung infolge der Reihenuntersuchung; 4) Zeitgewinn durch Beschränkung der Intervalle zwischen den Beobachtungsphasen; 5) Verwendung der Einsatztrommeln als Reagenzglasgestelle, auch im Brutschrank.

Der Apparat dürfte für Lehr- und Forschungszwecke der hygienischen Institute, zum Gebrauch in bakteriologisch-serologischen Untersuchungsstellen, aber auch für Laboratorien syphilidologischer, neurologisch-psychiatrischer, innerer und Infektions-Abteilungen zwecks Diagnosenstellung von Agglutinationen, Widalschen Reaktionen, Sachs-Georgi usw. geeignet sein.

Die Herstellung des Apparats hat die Firma F. u. M. Lautenschläger übernommen.

Notiz an die Mitarbeiter!

So lange die abnorm hohen Posttarife in Geltung sind, werden die Herren Mitarbeiter gebeten, bei Anfragen an die Schriftleitung den Betrag für die Antwort beizufügen.

Inhalt.

Becker, Rudolf, Beiträge zu einer Lebensgeschichte der Pferdebandwürmer, S. 168.

Gutfeld, Fritz v., u. **Weigert, Edith,** Zur Serodiagnostik der Tuberkulose mittels Komplementbindung, S. 134.

Ishiwara, Kikutaro, u. **Ogata, Norio,** Vorläufige Mitteilung über den Erreger der Tsutsugamushikrankheit. Mit 2 Tafeln, S. 164.

Kathe, u. **Schaede,** Eine Typhusepidemie und ihre wirtschaftlichen Folgen, S. 129.

Klein, B., Ueber Gärungsagglutination und Gärungsbakterizidie. II. Mitteilung, S. 198.

Konrádi, Daniel, Auffallend kurze Inkubationen bei menschlicher Wut, S. 162.

Korach, Alfred, Das Polyagglutinoskop. Mit 2 Abbildungen im Text, S. 206.

Kristensen, Martin, Untersuchungen über hämoglobinophile Bakterien. Mit 1 Kurve im Text, S. 182.

Ruge, Heinrich, Eine Wurstvergiftungsepidemie durch Bact. enteritidis Gärtner, zum Teil mit Botulismus-ähnlichen Erscheinungen. Mit 1 Kurve im Text, S. 143.

Saphir, Otto, Ueber eine handliche anaërobe Kulturmethode mit Oberflächenwachstum. Mit 1 Abbildung im Text, S. 205.

Venema, T. A., Ueber die Wirkung subkutaner Terpentininjektionen bei Kaninchen, S. 190.

Notiz an die Mitarbeiter! S. 208.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 90. Heft 4.

Ausgegeben am 4. Mai 1923.

Nachdruck verboten.

Das Fortbestehen der Gruber-Widalschen Reaktion nach Typhusschutzimpfungen.

[Aus der Bakteriologischen Untersuchungsanstalt für die Typhusbekämpfung in Mitteldeutschland beim Hygienischen Institut der Universität Jena.]

Von Dr. **Hage.**

Im Kriege war durch die ausgedehnten Schutzimpfungen gegen Typhus eines der wichtigsten diagnostischen Hilfsmittel, die Gruber-Widalsche Reaktion, beim Typhus für die heerespflichtigen Männer praktisch ausgeschaltet. Die Versuche, diese Reaktion mit Einschränkung noch zur Diagnose heranzuziehen, wie die Bestimmung der Titerhöhe oder das Ansteigen während einer typhusverdächtigen Erkrankung, schlugen auch fehl. Seitdem nun mehrere Jahre verflossen sind, kann die Frage nach der Ueberdauer einer nach der Schutzimpfung zurückführenden positiven und zu Fehldiagnosen Veranlassung gebenden Gruber-Widalschen Reaktion aufgeworfen werden.

Bei der Anstalt Jena sind im Laufe des Jahres 1921 insgesamt 45 Fälle und 1922 insgesamt 44 Fälle untersucht, bei denen Typhusschutzimpfungen stattgefunden hatten. Die Impfungen waren im Felde vorgenommen, so daß als letzte Impfung eine solche wohl spätestens im Oktober 1918 angesehen werden kann, mithin die Schutzimpfungen etwa 3 bzw. 4 Jahre zurücklagen. Eingeschickt waren die Seren wegen:

1. Typhusverdacht	in	16	bzw.	13	Fällen [1])
2. Ruhrverdacht	„	4	„	1	„
3. anderweitige Krankheiten	„	5	„	2	„
4. Begutachtung auf irgendwelche Kriegsschäden	„	17	„	24	„
5. Freisein von Typhus bei Geisteskranken	„	2	„	3	„
6. Umgebungsuntersuchungen bei Gesunden	„	1	„	1	„

Es waren	positiv	24	und	15	Fälle
„ „	zweifelhaft	9	„	8	„
„ „	negativ	12	„	21	„

Als positiv sind solche Fälle angesehen, bei denen der Titer 1 : 100 und höher war, als zweifelhaft solche mit einem Titer von 1 : 25 und 1 : 50.

Die positiven Fälle beider Jahre zeigten:

in 21	Fällen	eine	Titerhöhe	von	1 : 100
„ 9	„	„	„	„	1 : 200
„ 9	„	„	„	„	1 : 400

Sie erstreckten sich in ihrer Mehrheit auf die Gruppen 1—3, nämlich 19 von 24 im Jahre 1921 und 10 von 15 im Jahre 1922.

Alle Untersuchungen sind mit demselben Typhusstamm ausgeführt. Von den 24 positiven Fällen des Jahres 1921 waren 2 Leute an Typhus, 2 weitere an Paratyphus B krank, in den übrigen Fällen wurde der klinische Verdacht auf Typhus durch weitere Beobachtung und Unter-

1) Die erste Zahl bezieht sich auf das Jahr 1921, die zweite auf das Jahr 1922.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

suchung nicht bestätigt, sondern andere Krankheiten ermittelt, oder es lag schon von vornherein kein Verdacht auf Typhus vor. Die serologische Untersuchung der 2 auch klinisch an Typhus Erkrankten ergab:

Fall 1.	Widal	27. Juli	1921	Typhus	1:50 +	Paratyphus B	—
		6. Aug.	„	„	1:200 +	„	B —
		15. „	„	„	1:400 +	„	B —
Fall 2.	Widal	2. März	1921	Typhus	1:50 +	Paratyphus B	—
		10. „	„	„	1:200 +	„	B —

Es ist in beiden Fällen ein deutliches Ansteigen des Titers zu bemerken. Die Züchtung der Typhusbazillen ist nicht gelungen, weder aus dem Blut (trotz 10-tägiger Bebrütung der Gallebouillonröhrchen) noch aus mehrfachen Stuhl- oder Harnproben.

Die beiden Fälle von Paratyphus B zeigten folgenden serologischen Befund:

Fall 1.	Widal	6. Nov.	1921	Typhus	1:50 +	Paratyphus B	—
		10. „	„	„	1:50 +	„	1:200 +
						eigener Stamm	1:200 +
Fall 2.	Widal	21. Okt.	1921	Typhus	1:50 +	Paratyphus B	—
		26. „	„	„	1:50 +	„	1:100 +
						eigener Stamm	1:100 +
		9. Nov.	„	„	—	Paratyphus B	1:100 +

In beiden Fällen wurden Paratyphus B-Bazillen aus dem Stuhl gezüchtet, und zwar schon vorher, ehe die serologische Feststellung die Krankheit bestätigte.

Eine Typhuserkrankung hatten von den 1921 Untersuchten 3 Männer überstanden, und zwar einer 1911, sein Widal war bei der Untersuchung 1:100 +, der 2. im Felde (das Jahr konnte er nicht genau angeben), sein Widal war ebenfalls 1:100 +, der 3. 1917, sein Widal war negativ. Zum Vergleich mit diesen Geimpften seien hier 2 Ungeimpfte, 1 Mann und 1 Frau, erwähnt, die 1915 eine Typhuserkrankung überstanden hatten, der Mann zeigte 1921 einen Widal 1:50 +, und die Frau einen solchen 1:100 +.

Von den 1922 untersuchten Männern hatten 8 Typhus überstanden, davon 4 während des Krieges. Von diesen hatte der eine einen Widal 1:50 +, der zweite von 1:100 +, die beiden letzten einen negativen. 1 Mann hatte als Kind Typhus überstanden. Da er einen hohen positiven Widal hatte (1:400 +), wurden auch mehrfach Stuhl- und Urinproben untersucht, um eine etwa bei ihm bestehende Bazillenträgerschaft aufzudecken; Typhusbazillen fanden sich bei ihm aber nicht. Ein weiterer Geimpfter hatte 1910 Typhus gehabt, der Widal war bei ihm negativ. Die beiden letzten hierher gehörenden Männer hatten 1915 bzw. 1919 Typhus durchgemacht. Sie zeigten nur zweifelhafte Agglutinationswerte (1:25 bzw. 1:50).

An Paratyphus B waren 3 Leute im Felde erkrankt, bei 2 von ihnen war der Widal negativ, bei dem 3. 1:50 + für Typhus. Kein Serum dieser früher Paratyphuskranken agglutinierte in irgendeiner Verdünnung die Paratyphus B-Bazillen. Von der Schutzimpfung war ja, da im Gegensatz zu Frankreich bei den deutschen Truppen fast nur aus Typhusbazillen hergestellter Impfstoff verwendet war, keine Beeinflussung zu erwarten. Wir sehen daher auch nur dann eine positive Agglutination für Paratyphusbazillen, wenn frische paratyphöse Erkrankungen vorlagen, die außerdem durch die Züchtung der Bazillen aus dem Stuhle bestätigt wurden. Zweifelhafte Agglutinationen mit Paratyphus B-Bazillen wurden überhaupt nicht beobachtet.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus den obigen Zusammenstellungen ergibt sich, daß noch immer eine Beeinflussung der Gruber-Widalschen Reaktion besteht und die serologische Diagnostik, die gerade beim Typhus eine große Rolle spielt, hierdurch eine Einschränkung erfährt, die vorläufig nicht zu vernachlässigen ist. Daß natürlich nicht alle Geimpften nach längerer Zeit noch positive Agglutinationswerte zeigen, ist verständlich, wenn man bedenkt, daß schon während und kurze Zeit nach der Impfung starke individuelle Schwankungen der Agglutinationswerte zu beobachten sind (vgl. Hage und Korff-Petersen (Dtsch. med. Wochenschr. 1915. Nr. 45).

Bei 28 Teilnehmerinnen am Laborantinnenkurs des Hygienischen Institutes in Jena fand sich am Schluß der Typhusschutzimpfung 1917:

Höhe der Agglutination:

negativ	1:50 +	1:100 +	1:300 +	1:500 +	1:1000 +	1:3000 +
3	4	6	5	3	4	3
		im Jahre 1918 bei 25 Geimpften				
7	6	2	4	4	4	—

2 der im August 1917 Geimpften erkrankten Anfang bzw. Ende November des gleichen Jahres an Typhus, davon hatte die 1. nach der Impfung einen Widal von 1:100 + gehabt, die 2. einen negativen Widal.

Fall 1. 2. Nov. 1917 Widal Typhus 1:500 + (nach 24 Stunden 1:1000 +) Blutkultur positiv.
12. „ „ Widal Typhus 1:5000 + (mit eigenem Stamm austitriert), Blutkultur negativ.
3 Stuhlproben negativ.
Fall 2. 27.. „ „ Widal Typhus 1:300 +, Blutkultur negativ,
von 2 Stuhlproben 1 positiv.

Fall 2. An komplizierender Diphtherie gestorben. (Diese Angaben hat mir Herr Geheimrat Abel liebenswürdigerweise überlassen.)

Jakob (München. med. Wochenschr. 1916. S. 613) fand schon nach Ablauf von 2 Monaten in der Hälfte der Fälle bei Geimpften den Widal negativ. Nicht immer ist es so leicht, die Ursache des hohen positiven Widal (1:200 +) aufzuklären, wie in einem beobachteten Falle mit vorhergehender Schutzimpfung, bei dem der Verdacht auf Typhus ausgesprochen war. Die Fieberkurve erregte den Verdacht auf Malaria und im Blute wurden auch sofort Tertianparasiten gefunden. Die Verabfolgung von Chinin heilte prompt die Krankheit. Es ist hier wieder zu beobachten, daß irgendwelche fieberhafte Erkrankungen (hier eine durch Protozoen hervorgerufene) eine durch Bakterieneinwirkung verursachte Reaktion des Körpers verstärkt in die Erscheinung treten lassen. Um zu sehen, ob auch andere durch Protozoen verursachte Krankheiten die Agglutination für Typhus verstärkten, wurde eine Reihe von Seren, die zur WaR. eingeschickt waren, untersucht. Dieses Mal wurde zur Agglutination eine Abschwemmung benutzt, die aus vier verschiedenen Typhusstämmen hergestellt war.

Seren von 100 weiblichen ungeimpften syphilitischen Personen:

negativ	1:50 +	1:100 +
98	1	1

Es ergab sich hiermit keine Beeinflussung, denn bei den beiden, eine Agglutination zeigenden Fällen muß wohl eine frühere Typhuserkrankung angenommen werden, obschon bestimmte Angaben darüber nicht zu gewinnen waren, wie dies bei Ermittlungen von früheren

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Typuserkrankungen häufig zu beobachten ist. Ein anderes Bild ergab sich bei 115 geimpften syphilitischen Männern. Es waren:

negativ	1 : 50 +	1 : 100 +, höhere Werte wurden nicht gefunden
86	14	15

Eine Erklärung für diesen soviel größere Zahlen von einen zweifelhaften oder positiven Widal aufweisenden Befund läßt sich doch wohl nur in der vorhergegangenen Typhusschutzimpfung suchen, zumal zum Vergleich bei Männern und Frauen die gleichen Altersgruppen (22 bis 50 Jahre) untersucht sind.

Es wäre noch von Interesse, zu erfahren, wie sich die Agglutination bei einer größeren Zahl früher gegen Typhus geimpfter, jetzt aber gesunder Personen darstellt. Leider konnten bisher trotz mehrfacher Bemühungen die nötigen Seren nicht erhalten werden. Nur von 22 Kriegsbeschädigten, die lediglich äußere Verletzungen im Felde erlitten hatten, konnten weiter noch die Seren untersucht werden. Auch hier wurde wieder die Abschwemmung aus den 4 verschiedenen Typhusstämmen benutzt. Der Befund war:

negativ	1 : 50 +	1 : 100 +
13	8	1

Diese letztere Feststellung, daß auch bei Gesunden positive Agglutinationswerte so lange Zeit nach der Impfung festzustellen sind, hat mehr theoretisches Interesse. In der Praxis sollen serologische Untersuchungen zur Diagnosestellung gerade bei kranken Personen ausgeführt werden, und bei diesen, das muß noch einmal betont werden, ist eine frühere Typhusschutzimpfung auch heute noch bei der Bewertung serologischer Ergebnisse nicht zu vernachlässigen.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Studien über die Ausscheidungswege der Paratyphus B-Bazillen im Körper der Organismen.

[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten der Kaiserl. Universität zu Tokio (Direktor: Prof. Dr. M. Nagayo), Experimentell-therapeutische Abteilung (Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. K. Futaki).]

Von Dr. **K. Arai.**

A. Beiträge zur Kenntnis der experimentellen paratyphösen Cholecystitis.

Bereits sind zahlreiche Versuche unternommen worden, Typhus- bzw. Paratyphusbazillen in die Gallenblase von Versuchstieren einzubringen und sie zur längerdauernden Ansiedelung daselbst zu veranlassen. Nach der Art des Einbringungsmodus der Krankheitserreger kann man 3 Gruppen unterscheiden: Bei der 1. werden die Bakterien intravenös injiziert (Blackstein und Welch, Forster und Kayser, Johnston u. a.); bei der 2. Gruppe werden die Erreger nach Laparotomie direkt in die Gallenblase eingeführt (Hailer und Ungelmann, Uhlenhuth und Messerschmidt u. a.); die 3. Methode bringt die Bakterien in das Mark eines Röhrenknochens, um dort ein Depot der Krankheitserreger aufzuspeichern (Takaki).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Beurteilt man den Wert der verschiedenen Methoden, so läßt sich folgendes sagen: Bei der 1. Methode ist das Resultat zuweilen negativ, außerdem ist die Verweildauer der Erreger in der Gallenblase nur kurz, wenn geringe Bakterienmengen injiziert werden. Benutzt man große Mengen bei der Injektion, so gehen die Tiere bald zugrunde. Die 2. operative Methode opfert viele Tiere; die durch direktes Einbringen der Erreger in die Gallenblase hervorgerufene Cholecystitis ist mit der spontan entstehenden durchaus nicht gleichzusetzen. Die 3. Methode hingegen erlaubt, große Mengen der Erreger in den Körper einzuführen, deren Ausschwemmung langsam erfolgt; der Gesundheitszustand der Tiere leidet erfahrungsgemäß wenig; dabei ist der operative Eingriff sehr einfach. Die Veränderungen der Gallenblase entsprechen bei dieser Methode in weitgehender Weise den bei Spontaninfektionen, wie ich durch meine Versuche feststellen konnte. Gerade der Umstand, das bisher meines Wissens Untersuchungen über die pathologisch-anatomischen Veränderungen der Gallenblasen bei Versuchen mit dem Takakischen Verfahren nicht gemacht worden sind, hat mich veranlaßt, derartige Untersuchungen vorzunehmen.

Versuchsanordnung.

15 Kaninchen von etwa je 2500 g Körpergewicht wurden durch intravenöse Injektionen von Paratyphus B-Vakzin hoch immunisiert. Danach wurden je 5 Kaninchen nach den oben beschriebenen 3 Methoden behandelt. Die Kaninchen der 1. Gruppe erhielten Paratyphus B-Bazillen aus einer frischen Kultur in die Ohrvene eingespritzt (etwa 6 mg). Den 5 Kaninchen der 2. Gruppe wurde die gleiche Bakterienmenge nach der Methode von Uhlenhuth und Messerschmidt in die Gallenblase injiziert. Die 5 Kaninchen der letzten Gruppe schließlich erhielten die gleiche Bakterienmenge in das Mark eines Oberschenkels nach der Methode von Takaki. Nach Ausführung der Operation wurde der Gesundheitszustand der Kaninchen genau kontrolliert. Die Tiere der 1. und 2. Gruppe magerten stark ab, um sich zum Teil nach einiger Zeit wieder zu erholen. Von der 2. Gruppe starben 2 Tiere. Die Tiere der 3. Gruppe dagegen ließen kaum eine verminderte Lebhaftigkeit bzw. Abnahme des Appetits und Körpergewichts erkennen.

15 Tage nach der Operation wurden alle Kaninchen getötet, die Gallenblase wurde herausgenommen und einer genauen makroskopischen und mikroskopischen Untersuchung unterworfen. Vor allem wurde darauf geachtet, ob sich hinsichtlich der pathologisch-anatomischen Veränderungen Unterschiede bei den 3 Infektionsmethoden feststellen ließen. Vorweg kann man sagen, daß die anatomischen Veränderungen prinzipiell ähnlich, jedoch graduell bei den einzelnen Methoden verschieden waren. Der Inhalt der Gallenblasen wurde kulturell untersucht. In sämtlichen Fällen waren Paratyphus B-Bazillen in Reinkultur nachweisbar. Nach der Kulturentnahme wurden die Gallenblasen in 10-proz. Formalinlösung fixiert, danach in Celloidin und Paraffin eingebettet und histologisch untersucht. Von Färbungen benutzte ich: Hämatoxylin-Eosin, Methylgrün-Pyronin und Karbolthionin zur Färbung der Bakterien. Zur Vereinfachung der Darstellung wird im folgenden das Material von Gruppe I (intravenöse Injektionen) mit V bezeichnet, von Gruppe II (direktes Einbringen in die Gallenblase) mit G, von Gruppe III (Knochenmark) mit M.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Größe der Gallenblase: Bei V und G meist mittelgroß, selten vergrößert, bei M fast immer vergrößert.

Aeußere Oberfläche der Gallenblase: In 2 Fällen bei M fanden sich fibrinöse Auflagerungen und vermehrte Füllung der Blutgefäße. Was den Inhalt der Gallenblase angeht, so war er bei V und G etwas getrübt, aber meist dünnflüssig, von graugrünlicher Farbe mit schleimigen Beimengungen. Zuweilen fand sich feinkörniges, graugelbliches Sediment. Bei M handelte es sich stets um dunkelgrünbraune, zähe Flüssigkeit mit starker Trübung. Ausnahmslos enthielt diese Galle auch weiche, körnige Massen. Stets waren Bakterien in außerordentlicher Menge im Inhalt nachweisbar. Die Dicke der Gallenblasenwand schwankte bei V zwischen 0,7 und 1,0 mm, bei G zwischen 0,8 und 1,3 mm, bei M dagegen handelte es sich stets um eine deutliche Verdickung (1,0—1,8 mm).

Histologischer Befund: Hypertrophie der Tunica propria mucosae, Verbreiterung der Submucosa, Zottenbildung der Schleimhautfalten, drüsenschlauchartige Wucherungen der Epithelien. Diese Veränderungen sind stets bei M viel ausgesprochener als bei den beiden anderen Gruppen. Während bei V und G eine Hypertrophie der Muscularis und Verbreiterung der Subserosa nicht erkennbar war, ließ sie sich bei M nachweisen.

Bei V ist das Epithel nahezu immer vollständig erhalten, mit Ausnahme von kleinen Defekten auf der Höhe der Zotten. Bei G und M dagegen ist die Zottenoberfläche, abgesehen von der Basis, beinahe völlig von Epithel entblößt. Nekrotische Herde in der Schleimhaut waren bei V nur spärlich und in sehr geringer Ausdehnung nachweisbar. Bei M hingegen fanden sich ausgedehnte Nekrosen und Geschwürsbildungen in der Schleimhautoberfläche. Die Gruppe G nimmt eine Mittelstellung ein. Die Blutgefäßerweiterung geht ungefähr der Hypertrophie der Gallenblasenwand parallel, ist demnach bei M am hochgradigsten. Unter den Infiltratzellen der Schleimhaut ließen sich große, 1-kernige Zellen, Lymphozyten und Plasmazellen nachweisen. Kleine Rundzelleninfiltrationen fanden sich vorwiegend in der Nachbarschaft der Gefäße. Die Gruppe M zeigte einen besonderen Reichtum an Plasmazellen. Bei Gruppe V und G ließen sich Bakterien, die zweifellos mit den eingeführten Paratyphus B-Bazillen übereinstimmten, in den der Oberfläche der Schleimhaut anliegenden nekrotischen Massen nachweisen, zuweilen auch in den oberflächlichen Partien der Schleimhaut selbst. Bei M dagegen fanden sich die Bakterien auch reichlich in der Tiefe der Schleimhaut.

Zusammenfassend kann man sagen, daß die Veränderungen der Gallenblase bei der Methode von Takaki stets am ausgeprägtesten waren und den Veränderungen bei natürlicher Infektion am nächsten kamen. Den Grund für die guten Resultate bei dieser Methode glaube ich darin zu sehen, daß ein lange bestehendes Bakteriendepot im Knochenmark angelegt wird, von dem aus während einer länger dauernden Zeit fortwährend Bakterien in die Blutbahn übertreten.

B. Ueber die pathologischen Veränderungen der Niere bei der experimentellen Bakteriurie von Paratyphus B-Bazillen.

Experimentell läßt sich bei Kaninchen sehr leicht und einfach Bakteriurie erzeugen, wenn man den Tieren eine gewisse Menge der betreffenden Bakterien intravenös, am einfachsten in die Ohrvene, injiziert. Der Beginn der Bakteriurie, ihre Dauer und ihre Stärke hängt, abgesehen von der Menge der injizierten Bakterien, auch von ihrer Art ab, ferner besonders von der Individualität des Versuchstieres, besonders seiner Immunität gegen die betreffende Bakterienart.

Arima injizierte 1 mg Typhusbazillen in die Ohrvenen von gesunden Kaninchen und beobachtete frühestens erst 12 Std. nach der Injektion das Auftreten der Bakterien im Harne. Nach 72 Std. waren sie wieder daraus verschwunden. Ich selbst habe zuerst 8 mittelgroße Kaninchen durch intravenöse Injektion von Paratyphus B-Vakzin hoch immunisiert, dann wurden den Tieren 6—8 mg Paratyphus B-Bazillen aus einer frischen Kultur injiziert. Die Versuchstiere verloren zunächst an Körpergewicht, zeigten Kräfteverfall, wurden allmählich aber wieder-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hergestellt. Die Bakteriurie trat bereits 4 Std., spätestens aber 8 Std. nach der Injektion in mäßigem Grade auf und hielt wochenlang an. Die Bazillämie aber verschwand sehr viel früher als die Bakteriurie. Eiweiß oder irgendwelche Formbestandteile wurden während der ganzen Dauer der Bakteriurie im Harne nicht gefunden. In der 2. Woche nach der Infektion wurden die noch deutliche Bakteriurie zeigenden Kaninchen getötet und unter streng aseptischen Kautelen wurden Kulturen aus Blut und Nierengewebe angelegt. Diese Kulturen fielen in der Niere stets positiv, im Blute immer negativ in bezug auf Paratyphus B-Bazillen aus. Die Nieren wurden genau histologisch untersucht, aber trotzdem ich sehr genau darauf achtete, konnte ich weder einen Bakterienherd noch irgendwelche anderen anatomischen Veränderungen feststellen. Das gleiche negative Ergebnis hatten Untersuchungen der Nieren derjenigen Versuchstiere, die innerhalb 1 Woche nach der Infektion spontan gestorben waren, und kurz vor dem Tode noch starke Bakteriämie und Bazillurie gezeigt hatten. Auf Grund meiner Untersuchungsergebnisse trete ich der Ansicht derjenigen Autoren, wie z. B. Biedl, Kraus, Rolly, bei, die der Ansicht sind, daß Paratyphus B-Bazillen aus dem zirkulierenden Blute durch die gesunde Niere in den Harn übertreten können, ohne Nierenschädigungen zu bewirken.

Des weiteren habe ich mich damit beschäftigt, die Vorbedingungen zu studieren, die die Ausbildung von Infektionsherden in den Nieren bzw. deutlichen anatomischen Veränderungen durch die Paratyphus B-Bazillen begünstigen. Bisher sind zahlreiche kasuistische Mitteilungen erschienen, die die Frage behandeln, wo die Quelle der Dauerausscheidung von Typhus- bzw. Paratyphusbazillen im Urin zu suchen ist. Man hat Cystitis, Blasengeschwüre, Spermatocystitis, Prostataabszeß, Pyelitis, Nierenstein, Nierenabszeß und anderes mehr angeschuldigt. Besonders auf den Nierenabszeß richtete man seit den Erfahrungen des Weltkrieges hinsichtlich der Dauerausscheidung ein besonderes Augenmerk (Paul Krause, Herrnheiser, Frenzel, Pick, R. v. Wiesner). Für das Experiment ist es naturgemäß von großer Wichtigkeit, herauszufinden, auf welche Weise Nierenabszesse bei Versuchstieren künstlich hervorgerufen werden können, um sie als Quelle der Dauerausscheidung benutzen zu können. Daß bei der gewöhnlichen Infektion der Kaninchen durch Injektion in das Blutgefäßsystem gar keine besonderen anatomischen Veränderungen der Nieren auftreten, habe ich oben schon bemerkt. Andere Autoren haben bereits seit längerer Zeit darauf hingewiesen, daß noch besondere Hilfsmomente, abgesehen von der bakteriellen Infektion, notwendig sind, um anatomische Veränderungen der Nieren auszulösen. Kidd betont die allgemeine oder lokale spezifische Prädisposition, Bauer und Korányi hoben das Vorhandensein von Wandernieren und Nierendeformitäten hervor, Martius weist dem Habitus phthisicus, asthenicus, dem Status thymicolymphaticus sowie einem schlechten Ernährungszustande besondere Bedeutung zu. Ich selbst habe eine Reihe von Versuchen angestellt, um die besten Vorbedingungen für die Erzeugung eines Infektionsherdes von Paratyphus B-Bazillen in den Nieren ausfindig zu machen, und habe zu diesem Zwecke verschiedene Methoden angewandt.

1. Einfluß der künstlich hervorgerufenen Nephritiden.

Zu diesem Versuche wurden 10 mittelgroße Kaninchen verwandt, die vorher mit Paratyphus B-Vakzin hoch immunisiert wurden. 5 der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuchstiere erhielten subkutan eine gewisse Menge einer wässerigen Lösung von Urannitrat; die 2. Gruppe wurde durch intravenöse Injektionen von in physiol. Kochsalzlösung aufgelöstem Schlangengift (Trimeresurus flavoviridis riukiuanus) behandelt. Nach einigen Tagen, als mit Sicherheit feststand, daß bei den Kaninchen der 1. Gruppe tubulöse Nephritis, bei denen der 2. Gruppe Glomerulonephritis aufgetreten war, erhielten alle Versuchstiere intravenös 5 mg Paratyphus B-Bazillen aus einer frischen Kultur. Die Versuchstiere starben teils innerhalb 10 Tagen nach der Bazilleninjektion; sofern sie noch lebten, wurden sie 14 Tage nach der Infektion getötet. Bei der Sektion wurden aus Urin und Nieren Kulturen angelegt, die Nieren sodann nach Formalinfixierung histologisch untersucht. Während die Kulturen zwar stets auf Paratyphus B-Bakterien positiv ausfielen, gelang es nicht, im Nierengewebe Infektionsherde der Bakterien oder einzelne Bakterien selbst zu finden. Vielmehr zeigten die Nieren stets nur Veränderungen, die auf Schädigung durch Urannitrat bzw. Schlangengift zu beziehen waren.

2. Einfluß der mechanischen Schädigungen des Nierengewebes.

5 mittelgroße Kaninchen, die vorher gegen Paratyphus B-Bazillen hoch immunisiert waren, erhielten einen mechanischen, schweren Insult der einen Niere. Es wurde so vorgegangen, daß entweder ein heftiger Schlag auf die eine Nierengegend geführt wurde, oder aber die linke Niere wurde operativ freigelegt, gefaßt, zwischen 2 Fingerkuppen leicht gedrückt, bzw. ein Teil des Nierengewebes mittels einer Pinzette gequetscht. Einige Stunden danach wurden 5 mg Paratyphus B-Bazillen aus einer frischen Kultur intravenös injiziert. Nach einigen Tagen wurden die beiden Nieren eines jeden Tieres sowohl von den spontan gestorbenen Kaninchen als auch den getöteten kulturell und histologisch untersucht. In keinem Falle ließ sich ein Infektionsherd mit Paratyphus B-Bakterien feststellen. Bei Durchsicht der Literatur ergibt sich jedoch, im Gegensatz zu meinen negativen Befunden mit Paratyphus B-Bakterien, daß es Seeliger mit dieser Methode gelang, eine tuberkulöse Veränderung und Brewer embolische Infektionsherde mit Staphylokokken, Streptokokken, Pyocyaneus-Bazillen, Coli-Bazillen, Typhusbazillen, Pneumokokken und anderen Bakterien in der behandelten Niere zu erzeugen.

3. Einfluß des Harnleiterverschlusses.

Es sind bereits in der Literatur Versuche über Niereninfektion bei gleichzeitiger Harnstauung beschrieben worden. Heß und Harttung injizierten Kaninchen, deren linksseitiger Harnleiter unterbunden war, intravenös Staphylokokken, Coli-Bazillen und Typhusbazillen. Meinertz injizierte entsprechend behandelten Kaninchen Tuberkelbazillen. Diese Versuche fielen angeblich sämtlich positiv aus. Kürzlich veröffentlichte Leeper, daß es ihm gelang, bei Kaninchen eine Niereninfektion dadurch hervorzurufen, daß er den Versuchstieren intravenös Coli-Bazillen injizierte und ihnen 3 Std. später operativ den linksseitigen Harnleiter für die Dauer von 50 Min. unterband.

Ich selbst benutzte zu dem Versuche mittelgroße, vorher gegen Paratyphus B-Bazillen hoch immunisierte Kaninchen und unterband durch extraperitonealen Eingriff bei allen Kaninchen den linken Ureter

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

im obersten Abschnitt. Kurze Zeit nach der Operation wurde den Tieren ca. 5 mg Paratyphusbazillen aus einer frischen Kultur intravenös injiziert. Nach 3—14 Tagen wurden die Kaninchen getötet; die beiderseitigen Nieren wurden in jedem Falle bakteriologisch und histologisch genau untersucht. Aus der rechten unbehandelten Niere sowie aus dem Harn ließen sich stets Paratyphus B-Bazillen in der Kultur nachweisen. Histologisch dagegen wurden Veränderungen in der rechten Niere nicht gefunden. Im Gegensatz hierzu zeigte die linke Niere stets schon makroskopisch bedeutende Veränderungen. Das Organ war vergrößert, das Nierenbecken erweitert und mit eiteriger Flüssigkeit gefüllt, aus letzterer ließen sich stets Paratyphus B-Bazillen kulturell nachweisen. An der Oberfläche und der Schnittfläche der Niere fanden sich, je nach der Dauer der Infektion an Größe zunehmend, gelbe, streifenförmig von der Rinde nach dem Mark zulaufende Herde. Histologisch zeigten diese Herde völlig das Bild des beginnenden Ausscheidungsabszesses nach Orth. Bei den älteren Fällen fanden sich, abgesehen von den streifenförmigen, auch rundliche, zuweilen konfluierende Eiterherde, und unregelmäßige Bezirke mit Einschmelzung des Nierengewebes. Letztere fanden sich in erster Linie in der Spitze der Markkegel. Die Veränderungen boten demnach das Bild einer vollentwickelten Pyonephrose dar.

Aus diesen Ergebnissen läßt sich schließen, daß die durch Verschluß des Harnleiters bewirkte Harnstauung einen sehr günstigen Einfluß auf das Zustandekommen einer Niereninfektion durch Paratyphus B-Bazillen, vor allem in Form der sogenannten Ausscheidungsherde ausübt.

4. Einfluß der Unterbindung der unilateralen Nierenarterie.

Unterbindet man die Arterie der linken Niere, so erfolgt eine allmählich einsetzende Nekrose des ganzen Organs. Durch die folgenden Versuche bemühte ich mich, den Einfluß dieses Vorgehens auf die nicht operierte Niere bei nachfolgender Infektion mit Paratyphus B-Bazillen festzustellen.

Versuchsanordnung: Bei 3 mittelgroßen, vorher gegen Paratyphus B-Bazillen hoch immunisierten Kaninchen wurde mittels extraperitonealer Operation die linke Arteria renalis vollständig unterbunden. 8, bzw. 20, bzw. 25 Tage nach dem Eingriff erhielten die 3 Tiere je etwa 5 mg frisch kultivierter Paratyphus B-Bazillen. 2 der Kaninchen starben 6 Tage nach der Infektion, das 3. Kaninchen wurde 10 Tage nach der Infektion getötet. Bei allen 3 Versuchstieren wurde die rechte Niere bakteriologisch und histologisch untersucht. Makroskopisch zeigte das Organ eine geringe Zunahme an Volumen und Gewicht. Im 1. Falle fand sich in der Oberfläche der Niere subkapsulär, und zwar im vorderen unteren Teile des Organs, ein stecknadelkopfgroßer, gelblicher, etwas erhabener Bezirk. Auf der Schnittfläche setzte er sich, allmählich keulenförmig spitz zulaufend, nach dem Mark zu fort und endete in einer Papille. Die Farbe des Herdes war gelbweißlich. Außer diesem keulenförmig gestalteten Herde fand sich noch ein anderer, etwa linsengroßer, rundlicher Eiterherd in der Rinde. Beim 2. Falle ließ die Oberfläche der Niere Besonderheiten nicht erkennen, auf der Schnittfläche jedoch fand sich ein bohnengroßer, länglicher, gelblicher Eiterherd in eine Pyramide hineinreichend, außerdem damit zusammenhängend ein

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

etwa linsengroßer Blutungsherd im Mark. Bei der histologischen Untersuchung ließ sich feststellen, daß die Veränderungen zunächst stets im Interstitium von der unmittelbaren Umgebung der Blutgefäße ihren Ausgang nahmen. Die Blutgefäße selbst waren meist mit Paratyphus B-Bazillen verstopft. Ganz zweifellos handelte es sich um Eiterherde hämatogenen Ursprunges. Der 3. Fall zeigte makroskopisch weder an der Oberfläche noch an der Schnittfläche der Niere Veränderungen. Histologisch fanden sich kleine, eiterig infiltrierte Bezirke, entsprechend den oben dargestellten Veränderungen. Sie lagen im Mark. Aus diesen Versuchsresultaten läßt sich schließen, daß es mir gelang, bei einer nicht unmittelbar geschädigten Niere Infektionsherde mit Paratyphus B-Bazillen experimentell zu erzeugen. Die begünstigende Vorbedingung für den Erfolg sehe ich in der Unterbindung der anderseitigen Nierenarterie. Durch diesen Eingriff wird meiner Ansicht nach die operativ nicht geschädigte Niere, da sie die Funktionen des ausfallenden Nierengewebes mitübernehmen muß, so überlastet, daß die Widerstandskraft des Organs gegen die Bakterieninfektion herabgesetzt wird. Außerdem erscheint es mir sehr wahrscheinlich, daß aus dem untergehenden Gewebe der linken Niere Toxine entstehen, die schädigend auf die intakte Niere einwirken.

Zusammenfassung.

1) Die durch die Inokulation der Krankheitserreger in das Mark eines Röhrenknochens hervorgerufene experimentelle paratyphöse Cholecystitis entspricht der spontan entstehenden hinsichtlich ihrer Pathogenese und ihres pathologisch-anatomischen Bildes am meisten. Sie stellt deshalb das günstigste Objekt für weitere experimentell-therapeutische Versuche über die Dauerausscheidung der Paratyphusbazillen im Kote dar.

2) Beim Kaninchen werden intravenös injizierte Paratyphus B-Bazillen sehr leicht von den Nieren in den Harn ausgeschieden, ohne daß sich in den Nieren anatomische Veränderungen entwickeln.

3) Auch wenn beim Kaninchen die Niere zuvor chemisch oder mechanisch geschädigt war, gelang es mir nicht, durch in die Blutbahn eingebrachte Paratyphus B-Bazillen einen Infektionsherd in dem geschädigten Organ hervorzurufen.

4) Bei experimentell hervorgerufener Harnstauung durch Verschluß eines Ureters treten nach intravenöser Injektion von Paratyphus B-Bazillen in der vorbehandelten Niere Infektionsherde auf, die nach ihrer Pathogenese dem Ausscheidungsabszeß nach Orth entsprechen.

5) Wurden bei Kaninchen Unterbindungen der linksseitigen Nierenarterie vorgenommen, so entstanden in der rechten Niere nach intravenöser Injektion von Paratyphus B-Bazillen hämatogene Infektionsherde. Bei ihrem Zustandekommen spielt die Ueberlastung der Niere und ihre herabgesetzte Widerstandskraft eine wesentliche Rolle.

Literaturverzeichnis.

1) Arima, Arch. f. Hyg. Bd. 73. 1911. — 2) Bauer, J., Die konstitutionelle Disposition zu inneren Krankheiten. 2. Aufl. Berlin (J. Springer) 1921. — 3) Biedl u.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kraus, Arch. f. exp. Path. Bd. 37. 1896. — 4) Blackstein u. Welch, John Hopkins Bull. 1899. — 5) Brewer, Journ. Amer. med. Assoc. Vol. 57. 1911, p. 179. — 6) Forster u. Kayser, München. med. Wochenschr. 1905. — 7) Frenzel, Dtsch. med. Wochenschr. 1916. S. 974. — 8) Harttung, Berlin. klin. Wochenschr. 1914. S. 730. — 9) Hailer u. Ungermann, Dtsch. med. Wochenschr. 1912. Nr. 48. — 10) Heß, Mittlg. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. 26. 1913. S. 135. — 11) Herrnheiser, Med. Klin. 1920. Nr. 18. — 12) Kidd, Common Infect. of the Kidneys. London 1920. — 13) Korányi, A. V., Diagnost. u. therap. Irrtümer und deren Verhütung. (Inn. Med. H. 5, Krankheiten der Harnorgane. 2. Aufl. Leipzig (G. Thieme) 1922. — 14) Leeper, Journ. of Path. and Bact. Vol. 24. 1921. p. 192. — 15) Meinertz, Verhandl. d. 29. dtsch. Kongr. f. inn. Med. 1912. S. 393. — 16) Pick, Dtsch. med. Wochenschr. 1910. S. 1466; Berlin. klin. Wochenschr. 1918. S. 693. — 17) Rolly, München. med. Wochenschr. 1909. S. 1873. — 18) Seeliger [Inaug.-Diss.], Berlin 1909. — 19) Takaki, J., Chiugai-Iji-Shimpo. 1921. Nr. 997. — 20) Uhlenhuth u. Messerschmidt, Dtsch. med. Wochenschr. 1920. S. 1293. — 21) Wiesner, R. v., Handb. d. ärztl. Erfahrungen im Weltkriege. Bd. 8. Pathol. Anatomie. 1921.

Nachdruck verboten.

Ein Paratyphus A-Bazillus ohne Gasbildungsvermögen.

[Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut der medizinischen Akademie zu Osaka (Direktor: Prof. Dr. A. Sata, Abteilungsvorsteher Prof. J. Fukuhara).]

Von Dr. **Masaaki Yoshioka.**

Einleitung.

Ich beschreibe in dieser Mitteilung eine noch unbekannte Variation des Paratyphus A-Bazillus. Serologisch gehört die Variation zum Paratyphus A-Bazillus, bei Kultivierung auf Traubenzuckeragar erzeugt sie jedoch kein Gas. Es liegen schon einige Mitteilungen vor über Variationen des Paratyphus B-Bazillus ohne Gasbildung, die von Menschen und Tieren isoliert waren. Oette, Wagner und Ohno haben solche Variationen vom Menschen gezüchtet und beschrieben. Aus dem tierischen Organismus ist bis jetzt in 3 Fällen eine gleiche Variation ohne Gasbildung isoliert worden.

Sehr wenige Mitteilungen gibt es über Variationen des Paratyphus A-Bazillus und gar keine über solche, die kein Gas erzeugen. Ich habe eine solche Variation von Paratyphus A-Bazillen ohne Gasbildung ganz zufällig entdeckt, als mir in mein Institut aus der medizinischen Hochschule für Aerzte der Marine durch Vermittlung des serologischen Instituts zu Osaka mehrere Stämme von Paratyphus A-Bazillen geschickt wurden. Meinen Stamm habe ich seinerzeit unter dem Namen „Majeda“ erhalten: die Zeit seiner Isolierung und seine biologischen Eigenschaften waren mir damals nicht bekannt.

I. Morphologie, Beweglichkeit und färberisches Verhalten des Paratyphus A-Bazillus ohne Gasbildung.

Der Paratyphus A-Bazillus „Majeda“ ist ein Stäbchen, das etwa 10 Geißelfäden besitzt und sehr lebhaft beweglich ist. Es läßt sich leicht mit Anilinfarbstoffen färben, jedoch nicht nach Gram, und besitzt keine Sporen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II. Kulturelles Verhalten.

1) Auf Agarplattenkulturen sind die Kolonien mittelgroß glänzend und halb durchsichtig. — 2) Auf Gelatineplattenkulturen verhält sich dieser Stamm wie die Typhus- und Paratyphusbazillen. — 3) Gelatinestichkultur: Gelatine wird nicht verflüssigt. — 4) Bouillon- und Peptonwasserkultur gleichmäßig getrübt, keine Häutchenbildung. Ueppiges Wachstum. — 5) Kultur auf Endo- und Drigalski-Nährboden läßt den Nährboden unverändert. — 6) Auf Kartoffel erzeugt der Bazillus einen ziemlich dicken, grauweißen Belag. — 7) Kultur in Milch läßt die Milch über 1 Woche unverändert. — 8) Auf Neutralrotagar erzeugt er keine Gasbildung oder Entfärbung. — 9) Milchzuckeragarkultur zeigt keine Gasbildung. — 10) Traubenzuckeragarkultur: Obwohl dieser Kultur Traubenzucker in einer Menge von 0,5, 1,0—2,0 Proz. zugesetzt und die Kultur 1 Woche im Brutofen gehalten wurde, konnte doch keine Gasbildung nachgewiesen werden. Dieses Verhalten blieb während 6 Jahre dauernder Weiterzüchtung konstant. — 11) Lackmusmolke wird ziemlich stark rot; nach 1 Woche bleibt die Farbe unverändert. — 12) Auf Lackmus-Nutrosenährboden nach Barsiekow weist bei Zusatz von Milchzucker der Nährboden keine Veränderung auf, bei Zusatz von Traubenzucker nach 4 Tagen Rotfärbung, dann Gerinnung, bei solchem von Mannit nach 24 Std. Nährboden rot und nach 5 Tagen geronnen. — 13) Untersuchung auf Indolbildung: In Bouillon und Peptonwasser wurde länger als 1 Woche auf Indol geprüft, die Resultate waren negativ. Man kann also den Stamm „Majeda" vom Paratyphus A-Bazillus ohne Gasbildung von den gasbildenden Bazillen durch sein Verhalten auf folgenden Kulturen unterscheiden:

Auf Kartoffel bildet er einen ziemlich dicken Belag, Neutralrottraubenzuckeragar läßt er unverändert. Aus dem Verhalten der oben angeführten Nährböden könnte man schließen, daß es sich um einen Typhusbazillus handelt, aber der Stamm „Majeda" erzeugt auf Lackmusmolkenährboden eine intensivere Rotfärbung und wächst auf dem Kartoffelnährboden mit dickerem Belag als die Typhusbazillen. Um ihn ganz sicher von den Typhus- oder Paratyphusbazillen zu unterscheiden, ist eine serologische Untersuchung notwendig.

Untersuchung auf Agglutination.

Um ein Serum zu bekommen, habe ich Kaninchen mit folgenden Bazillenarten immunisiert: Paratyphus A- und B-, Typhusbazillen, Shiga-Krusesche Dysenteriebazillen, Strong-Dysenteriebazillen, Bazillus „Y", Flexnersche Ruhrbazillen, zuletzt mit Paratyphus B-Bazillen (Ohno) ohne Gasbildung und mit dem von mir entdeckten Stamm „Majeda". Mit dem erhaltenen Serum habe ich die Agglutination der verschiedenen Stämme untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab. I und II angeführt.

Aus Tab. I ist zu ersehen, daß das Paratyphus A-Serum bis zum homologen Agglutinationstiter den Stamm „Majeda" agglutiniert, andere Sera dagegen, wie Paratyphus B-, Ohno-, Typhus-, Shiga-, Strong-, Y- und Flexner-Serum agglutinieren den Stamm „Majeda" höchstens bis 1:50 oder gar nicht.

Aus Tab. II sieht man, daß das „Majeda"-Immunserum nur 5 Stämme des Paratyphus A-Bazillus bis zum Agglutinationstiter des immunisierenden Stammes agglutiniert, dagegen werden andere Bakterienarten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.
Agglutination des Stammes Majeda durch verschiedene Immunsera.

Verdünnung des Serums	Paratyphus A-Serum Titer[1]): 1:200	Paratyphus B-Serum Titer: 1:2000	Paratyphus B-ohne Gasbildung Serum Titer: 1:3000	Typhusserum Titer: 1:4000	Shiga-Serum Titer: 1:2000	Strong-Serum Titer: 1:2000	„Y"-Serum Titer: 1:2000	Flexner-Serum Titer: 1:2000
1:50	+	0	±	+	0	0	0	0
1:100	+	0	0	0	0	0	0	0
1:200	+	0	0	0	0	0	0	0
1:400	+	0	0	0	0	0	0	0
1:800	+	0	0	0	0	0	0	0
1:1000	+	0	0	0	0	0	0	0
1:2000	+	0	0	0	0	0	0	0
1:4000	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle II.
Agglutination verschiedener Stämme durch „Majeda"-Immunserum.

Verdünnung des Serums	Paratyphus A-Bazillus						Paratyphus B-Bazillus					Typhusbazillus					Dysenterie							
	Majeda	Shinabe	Aono	Yamashita	Kishigama		Tokio	Takami	Fusiwara	Moribe	Ohno		Metukuto	Ujeda	Shimisudoni	Kojama	I	II	III	IV	V	Gärtner	Mäusetyphus	Schweinepest
1:50	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	0	0	0	0	+	+
1:100	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0	0	±	0	+	0	0	0	0	0	+	0
1:200	+	+	+	+	+	+	+	0	±	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0
1:400	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:800	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:1000	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:2000	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:3000	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:4000	+	0	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:5000	0	0	0	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

wie Paratyphus B, Ohno, Typhusbazillen, Dysenteriebazillen, Gärtner, Mäusetyphus, Schweinepest durch dieses Serum bis höchstens 1:200 oder gar nicht agglutiniert.

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß der Stamm „Majeda" in seinen Agglutinationsvorgängen mit den Paratyphus A-Bazillen übereinstimmt.

III. Untersuchung auf Komplementbindung.

Ich habe auch die Komplementbindungsreaktion diesem Stamme gegenüber untersucht. Als Antigen benutzte ich zuerst verschiedene Bakterienarten und das Immunserum von Kaninchen, das mit dem Stamme „Majeda" vorbehandelt wurde, dann umgekehrt als Antigen den Stamm „Majeda" und die Immunsera von Kaninchen, die mit verschiedenen Bakterienarten vorbehandelt waren. Als Kontrolle benutzte ich ein homologes Antigen und Immunserum.

1) der homologen Agglutination.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in den Tab. III und IV wiedergegeben. Die Methodik war dabei folgende: 1) Als Antigen wird eine 24-stünd. Schrägagarkultur mit 0,5 ccm physiol. Kochsalzlösung abgeschwemmt und während 1 Std. bis auf 60° erhitzt, im Schüttelapparat 24 Std. geschüttelt, durch einen Asbestfilter klar filtriert und jede unterbindende Dosis des Antigens geprüft. Sie war bei Stamm „Majeda" 0,07, bei Paratyphus A 0,04, bei Typhus 0,05, bei Paratyphus B und Ohno 0,05, beim Shiga-Kruse-Bazillus 0,03. Bei den Versuchen habe ich die halbe Dosis der unterbindenden Dosis gebraucht. — 2) Das Immunserum wird inaktiviert. — 3) Als hämolysierendes Serum wurde Hammelblutkaninchenimmunserum in einer Menge von 0,0025 gebraucht. Zum Versuch wird die doppelt hämolysierende Dosis benutzt. — 4) Als Komplement wird stets ganz frisches Serum normaler Meerschweinchen benutzt, die Gebrauchsdosis war immer 0,1. — 5) Die Hammelblutkörperchen waren frisch entnommen und mit physiol. Kochsalzlösung 3mal gewaschen. Im Versuche wurde 1 ccm einer 5-proz. Aufschwemmung zugesetzt. — 6) Kontrollversuche wurden stets angestellt. — 7) Es werden Antigen, Antikörper und Komplement gemischt und 1 Std. im Brutschrank bei einer Temperatur von 37° belassen. Darauf wird das hämolytische System, das während 30 Min. bei einer Temperatur von 37° sensibilisiert wurde, zugesetzt. Das Gemisch bleibt im Brutschrank bei 37° während 2 Std. und dann im Eisschrank bis zum nächsten Tage. Nach 24 Std. werden die Befunde notiert.

Tabelle III.

Komplementablenkungsversuch zwischen „Majeda"-Immunserum und Antigen von verschiedenen Bakterien:

Antigen	Serumverdünnung									
	0,1	0,08	0,06	0,04	0,02	0,008	0,006	0,004	0,002	0,001
„Majeda"	0	0	0	0	0	0	0	Sp	fk	k
Paratyphus A	0	0	0	0	0	0	0	Sp	fk	k
Typhus	0	0	Sp	fk	k	k	—	—	—	—
Ohno	fk	k	k	k	k	k	—	—	—	—
Paratyphus B	fk	k	k	k	k	k	—	—	—	—
Shiga-Kruse	k	k	k	k	k	k	—	—	—	—

k = komplett; Sp = Spuren; 0 = keine Hämolyse; fk = fast komplett.

Tabelle IV.

Komplementablenkungsversuch zwischen Serum verschiedener Bakterien und Antigen vom Stamm „Majeda".

Antigen	Serumverdünnung										
	0,1	0,08	0,06	0,04	0,02	0,01	0,008	0,006	0,004	0,002	0,001
„Majeda"	0	0	0	0	0	0	0	0	Sp	Sp	k
Paratyphus A	0	0	0	0	0	0	0	0	Sp	Sp	k
Typhus	0	Sp	Sp	fk	fk	k	—	—	—	—	—
Ohno	k	k	k	k	k	k	—	—	—	—	—
Shiga-Kruse	k	k	k	k	k	k	—	—	—	—	—

Der Komplementbindungstiter des Majedaimmunserums beträgt gegenüber Majedaantigen 0,006, gegen Paratyphus A-Antigen 0,006, gegen Typhusantigen 0,08, bei Ohno-Antigen, Paratyphus B und Shiga-Kruse-Antigen dagegen findet mit Serum 0,1 überhaupt keine Bindung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

statt. Der Komplementbindungstiter des Paratyphus A-Immunserum gegenüber Majedaantigen war 0,006, des Typhusimmunserum 0,1. Bei Verwendung anderer Sera in Mengen von 0,1 findet keine Bindung statt.

Typhusbakterien zeigen mit Majedaimmunserum eine schwache Komplementbindung, ebenso der Majedastamm mit Typhusimmunserum. Diese Erscheinung ist als eine Art Gruppenreaktion zwischen Paratyphus A- und Typhusbazillen aufzufassen. Ich habe darum noch weitere Komplementbindungsversuche zwischen Paratyphus A-Immunserum und Typhusantigen einerseits, Majedaantigen, Typhusimmunserum und Majeda- und Paratyphus A-Antigen andererseits angestellt. Der Titer war für Paratyphus A-Immunserum mit homologem Antigen 0,003, mit Majedaantigen 0,006, mit Typhusantigen dagegen 0,06, für Typhusimmunserum mit homologem Antigen 0,0007, mit Majedaantigen dagegen 0,09 und mit Paratyphus A-Antigen 0,08 d. h., es finden also zwischen den genannten Seris und Antigenen Gruppenreaktionen statt.

IV. Untersuchung auf Bakterizidie im Reagenzglasversuch.

Für diesen Versuch werden folgende Substrate benutzt: 1) Zur Herstellung der Bakterienemulsion dient eine 24-stünd. Agarkultur der betreffenden Bakterienart. Von dieser wird $^1/_{8000}$ mg in 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. — 2) Als Komplement wird frisches Kaninchenserum mit physiol. Kochsalzlösung 6-fach verdünnt benutzt. Davon werden zum Versuch 0,5 ccm verwandt. — 3) Das Prüfungsserum, das durch Immunisierung von Kaninchen mit verschiedenen Bakterienarten gewonnen ist, wird inaktiviert und mit physiol. Kochsalzlösung 1 : 100, 200 usw. verdünnt. Zum Versuch benutzte Menge: 1,0 ccm.

Die 3 eben angeführten Flüssigkeiten werden in Reagenzröhrchen gemischt, so daß jedes Röhrchen 2,0 ccm des Gemisches enthält, dann werden sie für 6 Std. in den Brutofen getan und hier alle 2 Std. geschüttelt. Dann werden jedem Reagenzgläschen 10 ccm bis auf 45° abgekühlten Agars zugesetzt. Nach der Erstarrung wird die Mischung in den Brutofen gebracht und nach 24 Std. werden die ausgewachsenen Kolonien gezählt.

Diese Bakterizidieversuche waren mit folgenden Seris angestellt: 1) Mit solchen von Kaninchen, die mit dem Stamme Majeda immunisiert waren. — 2) Mit denen von Kaninchen, die mit verschiedenen Bakterienarten immunisiert waren. — Es wird die Bakterizidie an den verschiedenen Bakterien und Immunsera geprüft.

Die Versuche ergaben, daß die Bakterizidiezone von Majedaserum gegen Stamm Majeda 0,00025—0,00005, gegen Paratyphus A-Bazillus 0,0005--0,000125, gegen Typhus 0,001 beträgt, Paratyphus B- und Dysenteriebazillen bleiben unbeeinflußt. Die Bakterizidiezone von Paratyphus A-Serum gegen Paratyphus A beträgt 0,0005—0,0001, gegen Stamm Majeda 0,000125—0,0001, gegen Typhus 0,005. Die Bakterizidiezone von Typhusserum gegen Stamm Majeda beträgt 0,0005 bis 0,00025, gegen Paratyphus A- 0,001—0,00025, gegen Typhusbazillen 0,0001—0,0000125, dagegen hat Paratyphus B und Dysenterieserum in einer Dosis von 0,01 keine Wirkung. Die Beeinflussung von Typhusbazillen durch Majeda- bzw. Paratyphus A-Serum wie diejenige von Majeda- bzw. Paratyphus A-Bazillen durch Typhusserum ist als Gruppenreaktion aufzufassen.

Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Wie aus diesen Versuchen zu ersehen ist, stimmt der Stamm Majeda in seiner Bakterizidiewirkung mit Paratyphus A überein.

Zusammenfassung.

1) Der Stamm „Majeda“ stimmt mit den Paratyphus A-Bazillen morphologisch und kulturell überein, er unterscheidet sich von ihnen dadurch, daß er in Traubenzuckeragar kein Gas erzeugt; auf Kartoffelkultur bildet er einen etwas dickeren Belag. — 2) Auch bei der serologischen Untersuchung auf Agglutination, Komplementbindung und Bakterizidie im Reagenzglasversuch zeigt der Stamm Majeda ein gleiches Verhalten wie Paratyphus A-Bazillen. — 3) Der Stamm Majeda kann daher als eine biologische Varietät des Paratyphus A-Bazillus mit bestimmten spezifischen Eigenschaften betrachtet werden.

Literaturverzeichnis.

1) Oette, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1912. — 2) Wagner, ebenda. Bd. 71. 1913. — 3) Ohno, ebenda. Bd. 75. 1914.

Nachdruck verboten.

Variationserscheinungen bei Staphylococcus pyogenes aureus.

[Aus dem Hygienischen Institut der Deutschen Universität in Prag.]

Von **F. Breinl** und **M. Fischer.**

Die Variabilität der Gruppe Staphylococcus wurde wiederholt untersucht.

Als erster beschrieb Neumann (1) einen spontan variierenden Micrococcus pyogenes α: Die orangefarbene Kultur spaltete nach längerem Wachstum rosa, zitronengelbe und rein weiße Abarten ab, die sich von der Ausgangsform durch verringerte Säurebildung, fehlende Milchgerinnung und verlangsamte Gelatineverflüssigung unterschieden. Aus der rosa Variante konnte nach mehreren Passagen die ursprüngliche orangegelbe Form mit allen ihren Eigenschaften zurückgewonnen werden. Nach diesem Befunde glaubt Neumann, die in der Natur vorkommenden gelben und weißen Rassen als Varianten einer gemeinsamen Stammform ansprechen zu können.

Baerthlein (2) fand in einem Kniegelenkseiter 4 verschiedene Varianten von Staphylococcus, die er mit Hilfe seiner ausgezeichneten Methode der Dauerkultur im flüssigen Medium teilweise ineinander überführte. Die 4 Stämme wichen in ihrem morphologischen, biochemischen und agglutinatorischen Verhalten voneinander ab.

Die vorliegende Untersuchung erbringt den Nachweis, daß neben den genannten Eigenschaften auch die Gramfestigkeit einzelner Stämme der Variabilität unterliegt.

10 gelbe Staphylococcus-Stämme, aus verschiedenen Eiterproben gewonnen, wurden nach mehrmaliger Umzüchtung in Bouillonröhrchen verimpft und durch 5 Mon. bei Zimmertemp. gehalten. Auf den Plattenausstrichen erschienen dann Kolonien verschiedenster Art:

Stamm I. a) normale, gelbe Kolonien (Ausgangsstamm), b) weiße mit stark glänzender Oberfläche, c) weiße mit gelben Einsprengungen, d) durchsichtige, gezacktrandige.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mikroskopisch untersucht, erwiesen sich a)—c) als gramfeste Staphylokokken in typischen traubenförmigen Verbänden gelagert. Stamm d) ist vollständig gramnegativ, die einzelnen Individuen kleiner als die des Ausgangsstammes, die traubenförmige Lagerung weniger deutlich.

Die Gramfärbung wurde immer mit den gleichen Reagentien in folgender Weise ausgeführt: konz. alkohol. Gentianaviolettlösung ohne Beize 5 Sek. Abspülen mit Lugolscher Lösung, die dann $1^1/_2$ Min. auf das Präparat einwirkt. Abspülen mit 96-proz. Alkohol und Einwirkenlassen, solange sich der Alkohol noch färbt. Wasserspülung. Nachfärben mit verdünntem Karbolfuchsin.

Stämme II und III: Normale, gelbe Staphylokokken gleich dem Ausgangsstamm — keine Varianten.

Stamm IV. a) normale gelbe Kolonien (Ausgangsstamm), b) weiße, stark glänzend, c) kleinere transparente, d) durchscheinende, helle mit radiären opaken Streifen, e) Zwergform, gelb mit Rückschlägen wie a), f) Zwergform, weiß mit Rückschlägen wie b), g) Zwergform, sehr langsam wachsend.

Alle Kolonien bestanden aus gut entwickelten, gleich großen Staphylokokken. Die Gramfestigkeit war bei den Stämmen c), d), g) stark herabgesetzt. Stamm c) enthielt etwa gleichviel positive und negative Keime, während bei d) die negativen in den ersten Passagen bei weitem überwogen. Stamm g), der 8 Wochen später aus der Dauerkultur gewonnen wurde, enthielt neben völlig negativen reichliche Uebergangsformen.

Stamm V. a) normale, gelbe Kolonien (Ausgangsstamm), b) weiße, c) durchsichtige glashelle, ständig a) abspaltend, d) durchscheinende mit auslaufendem Rande, Typus b) abspaltend, e) weiße Zwergkolonien.

Stamm VI. a) normale gelbe Kolonien, b) bläulich durchscheinende, ständig in a) rückschlagend.

Beide Stämme sind morphologisch typische Staphylokokken. Die hellen Anteile der Varianten Vc) und VIb) bestehen vorwiegend aus gramnegativen Keimen.

Stämme VII, VIII, IX enthalten keine Varianten, Stamm X. a) gelbe normale Kolonien (Ausgangsstamm), b) weiße, c) dunkelgelbe derbe Kolonien mit hellgelben Einsprengungen, aus denen bei getrennter Abimpfung a) und b) hervorgehen, d) Zwergkolonien teils weiß, teils gelb, e) kleine bläulich transparente, aus denen abgespalten werden: f) weiße glasige Kolonien, langsam wachsend, nach einigen Tagen zeigen sich wasserhelle durchsichtige Sektoren.

Mikroskopisch durchweg typische Staphylokokken, mit Ausnahme von Stamm f). — Die hellen Sektoren der Kolonien bestehen ausschließlich aus gramnegativen Kokken.

In ihrem färberischen Verhalten wichen also Id, IVc, g, Ve, VIb und Xf von der Norm ab. Stamm Id, der vollständig gramnegativ ist, spaltete anfangs bei täglicher Ueberimpfung auf Schiefagar typischen, gramfesten Aureus ab, schließlich gelang es doch, eine reine Linie zu isolieren, die auch im flüssigen Medium dauernd konstant blieb. Von den teilweise gramnegativen Varianten des Stammes IV schlug die durchscheinende Form e schon nach wenigen Passagen in einen typischen Staphylococcus albus um. Variante d konnte auf Agar etwa einen Monat lang konstant erhalten werden, später wurden die opaken Radien immer breiter und brachten die gramnegativen Partien schließlich ganz zum Verschwinden. In Bouillon führten schon wenige Passagen einen Rückschlag in die Ausgangsform herbei. — Die sehr kümmerlich wachsende Variante g) konnte nur durch wenige Gene-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

rationen am Leben erhalten werden. In Bouillon trat sofortiger Rückschlag in die Albus-Form, entsprechend der Variante IVb auf. Ebenso unbeständig waren die Stämme Vc und VIb: in Bouillon erlangten sie sofort, auf Agar nach mehreren Passagen völlige Gramfestigkeit.

Die Kolonien des Stammes Xf dagegen bilden dauernd auf festen Nährböden gramnegative Sektoren.

Verlust der Grambeständigkeit kann unter mannigfachen Bedingungen beobachtet werden: in alten Agar- und Bouillonkulturen findet man bekanntlich in der Regel eine Anzahl „degenerierter", gramnegativer oder gramschwacher Individuen. Besonders deutlich haben wir diese Erscheinung bei Pneumo- und Streptokokkenkulturen gesehen, die längere Zeit in verdünntem Serum nach Ungermann aufbewahrt waren. Im gleichen Sinne wirken auch die humoralen und zellulären Abwehrkräfte der tierischen Organismen gegenüber infizierenden gramfesten Arten [Emmerich und Saida (3), Jarotzky (4), Kißkalt (5), Deutsch (6)]. — Wie weit derart veränderte Keime in ihrer Vermehrungsfähigkeit geschädigt sind, ist unentschieden; doch beweisen unsere Befunde, nach denen es gelang, aus grampositiven Arten negative abzuspalten, die in ihrer Vitalität dem Ausgangsstamme keineswegs nachstehen, daß der Verlust der Gramfestigkeit dem der Lebensfähigkeit nicht notwendig parallel gehen muß. Eisenberg (7) konnte die gleiche Erscheinung durch Züchtung in Leukozytenaufschwemmung und leukozytenhaltigem Serum erzielen.

Die verschiedenen Versuche, welche dahin zielten, das Gramverhalten der Bakterien durch chemische Eingriffe zu ändern, haben es wahrscheinlich gemacht, daß die Träger dieser Eigenschaft bestimmte chemische Substanzen sind, durch deren Gegenwart auch der physikalisch-chemische Zustand des Bakterienleibes mitbedingt ist. Gelingt es doch, künstlich gramnegativ gemachten Keimen durch geeignete Nachbehandlung mit Loeffler-Beize [Nikitine (8)], Cerium- und Thoriumsalzen [Simonini (9)] oder Nukleinstoffen [Deussen (10)] ihr ursprüngliches tinktorielles Verhalten wiederzugeben. Ob als Träger der Gramfestigkeit Eiweißkörper, Fette, Hemizellulosen (Cederkreutz (11)], Lipoide bzw. Lipoproteide [Eisenberg (12), Dreyer, Kriegler und Walker (13)] oder Nukleine [Deussen, Hottinger (14)] anzusehen sind, ist für die vorliegende Untersuchung von geringerer Bedeutung. Man wird Eisenberg zustimmen dürfen, wenn er die Ansicht äußert, „daß es kein einzelner Faktor ist, der die Gramfestigkeit bedingt, sondern eine Reihe von Faktoren, die in diesem Sinne wirken". Man darf wohl weiter annehmen, daß bei den verschiedenen grambeständigen Arten nicht immer die gleichen Faktoren für diese färberische Eigentümlichkeit verantwortlich sind.

Eisenberg hat mit Hilfe der modifizierten Claudius-Methode überzeugend nachgewiesen, daß als Träger der Gramfestigkeit in 1. Linie die Rindenschicht, das Ektoplasma der Bakterienzelle in Betracht kommt, während das Endoplasma fast aller untersuchten Arten nicht imstande war, die Gramfärbung festzuhalten. Der gleiche Autor fand auch in den Organabstrichen von milzbrandinfizierten Tieren wiederholt neben einem typischen gramfesten Stäbchen ein bedeutend schlankeres gramnegatives, das von einem hellen, ungefärbten Hofe umgeben war. Dieser helle Hof entsprach genau der Breitendifferenz der beiden Stäbchen, muß also als das Ektoplasma angesehen werden, das unter dem Einfluß der Abwehrkräfte des Organismus seine Färbbarkeit verloren hatte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Diese Befunde sind für die Deutung unserer Staphylokokkenvarianten — namentlich des St. Id — von besonderem Interesse. Die überwiegende Mehrzahl aller bisher bekannt gewordenen Bakterienmutanten — wenn nicht alle — sind als Verlustmutanten anzusprechen. Ausgedehnte Untersuchungen über serologische Varianten innerhalb der Proteus- und Typhus-Paratyphusgruppe [Weil, Gruschka, Fürth, Verf. (15)] haben ergeben, daß gerade die peripher liegenden Antigene des Bazillenleibes der Mutation am leichtesten zum Opfer fallen, eine Erscheinung, die sich morphologisch als Verlust des Geißelapparates zu erkennen gibt. Wir müssen daraus schließen, daß auch im Falle des Staphylokokkenstammes Id eine tiefgreifende Veränderung oder Reduktion der Rindenschicht eingetreten ist, die den Verlust der Gramfestigkeit bedingt hat. Der Umstand, daß das einzelne Individuum (bzw. sein färbbarer Anteil) wesentlich kleiner ist, als das des Ausgangsstammes, spricht ebenso für diese Annahme, wie das serologische Verhalten dieses Stammes, von dem noch zu sprechen sein wird.

Beim St. Xf spaltet die zunächst homogene, gramschwache Kolonie nach einigen Tagen durchsichtige, rein gramnegative Sektoren ab, aus denen bei getrennter Ueberimpfung immer wieder diese in färberischer Hinsicht ständig rückschlagende Sippe gewonnen werden kann. Die opaken Partien gehen, gesondert übertragen, bald in die gramfeste Albus-Form über.

Die rasch verschwindende Grambeständigkeit und Transparenz der Stämme IVc, g, Ve, VIb ist als fluktuierende Variabilität des Ektoplasmas zu deuten: der variationsanregende Reiz der alternden Bouillonkultur war in diesen Fällen nicht stark genug, um die Veränderungen am Bakterienleibe erblich zu fixieren.

Die übrigen grampositiven Varianten behielten auf allen Nährböden ihre Wachstumsform bei, mit Ausnahme der Zwergstämme, die nach mehreren Ueberimpfungen zum größten Teil in die gelbe Ausgangs- oder in die Albus-Form umschlugen. Mikroskopisch waren an den einzelnen Kokken keine Formänderungen wahrzunehmen.

Die fermentativen Fähigkeiten aller Ausgangsstämme und ihrer gramfesten Varianten entsprachen denen typischer Staphylokokken. Von ihnen unterschied sich der negative Stamm Id dadurch, daß er in Lackmusmolke wenig Alkali bildete und Gelatine nicht zu verflüssigen vermochte. Beim St. Xf traten diese Reaktionen nur zögernd ein. Hämolysinbildung gegenüber Hammelblut fehlt bei Id und Xf im Gegensatz zu den Originalstämmen auf der Blutplatte völlig, ist dagegen in Blutbouillon noch deutlich nachweisbar.

Die tiefgreifende Veränderung, die der Verlust der Gramfestigkeit im Aufbau des Bakterienleibes bedeutet, kommt auch im serologischen Verhalten dieser Stämme zum Ausdruck. — Ein Kaninchenimmunserum, mit Staphylococcus Ia hergestellt, agglutinierte alle Ausgangsstämme und ihre geimpften Varianten bis zum Titer 1:2000, mit Ausnahme des Stammes IV, der nur noch in der Verdünnung 1:100 reagierte. — Id agglutinierte in diesem Serum bis 1:50, während Xf und die rückschlagende Variante VIb unbeeinflußt blieben. Ganz analoge Ergebnisse wurden mit der Komplementbindungsreaktion erzielt.

Stamm Id erzeugt ein Immunserum, in dem er selbst bis 1:1000, der St. Ia bis 1:200 agglutiniert.

Zur Klärung der antigenen Verwandtschaft beider Stämme wurde nachstehender Absättigungsversuch angestellt:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Rasen einer gut bewachsenen Kolle-Schale des Stammes Id und Va wird bei 60° abgetötet und nach Entfernung der Extrakte in 4 ccm Serum Ia (Verdünnung 1:50) aufgeschwemmt. Zur Bindung bleibt die Emulsion 3 Std. bei 37°, danach wird sie klar zentrifugiert und das überstehende Serum auf seinen Gehalt an Immunkörpern geprüft. Der gleiche Bindungsversuch wird mit dem Serum Id angestellt.

	erschöpft	agglutiniert	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	Kontrolle	
Serum Ia	0	Ia	+++	+++	+++	+++	++	±	—	—	1
		Id	++	—	—	—	—	—	—	—	2
	Ia	Ia	—	—	—	—	—	—	—	—	3
		Id	—	—	—	—	—	—	—	—	4
	Id	Ia	+++	+++	+++	++	±	—	—	—	5
		Id	—	—	—	—	—	—	—	—	6
Serum Id	0	Ia	+++	+++	++	—	—	—	—	—	7
		Id	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	8
	Ia	Ia	—	—	—	—	—	—	—	—	9
		Id	+++	+++	+++	±	—	—	—	—	10
	Id	Ia	—	—	—	—	—	—	—	—	11
		Id	—	—	—	—	—	—	—	—	12

Das Ergebnis dieses Versuches läßt sich wohl am einfachsten in der Weise deuten, daß man das Vorhandensein von 2 Rezeptoren an jedem Stamme annimmt. St. I besitzt außer seinem Hauptrezeptor einen mit Id gemeinsamen Nebenrezeptor (Zeile 2). — Im Serum Id kommt dem gegen Ia gerichteten Agglutinin nur die Rolle eines Nebenagglutinins zu (Zeile 7), während das Hauptagglutinin mit dem durch den Nebenrezeptor von Ia erzeugten qualitativ übereinstimmt. Daß Ia mit diesem Nebenrezeptor tatsächlich ausgerüstet ist, zeigt sich nicht nur in dem von ihm erzeugten Serum (Zeile 2), sondern auch daran, daß er befähigt ist, das Hauptagglutinin des Serums Id merklich zu verankern (Zeile 10). — Andererseits ist die antigene Identität des Nebenrezeptors von Id sowohl durch sein immunisatorisches Verhalten (Zeile 7), als auch durch sein deutliches Bindungsvermögen gegenüber dem Hauptagglutinin von Ia (Zeile 5) bewiesen. Der Hauptrezeptor des Ausgangsstammes ist also zum Nebenrezeptor der Variante geworden, und umgekehrt. Man hätte sich demnach vorzustellen, daß — als Folge des Mutationsvorganges — ein Wechsel in der Wertigkeit der Rezeptoren eingetreten ist, und vermeidet dadurch die Annahme eines neu erworbenen Rezeptors; eine Annahme, die mißlich ist, da doch Bakterienmutanten als Verlustmutanten aufgefaßt werden.

Da nun als Sitz der Gramfestigkeit die Rindenschicht des Bakterienleibes betrachtet werden muß, die, wie früher gezeigt wurde, bei Mutationsvorgängen besonders leicht geschädigt wird, darf man annehmen, daß beim Ausgangsstamm das Agglutinin in erster Reihe von dem unversehrten Ektoplasma gebildet wird, während die antigene Wirkung der übrigen Leibesbestandteile nur zu geringer Geltung kommt. Der Variationsvorgang hat dagegen die antigene Fähigkeit des Ektoplasmas stark beeinträchtigt — es erscheint bei St. Id nur als Nebenrezeptor — die vom Endoplasma erzeugten Antikörper treten dadurch stärker in den Vordergrund.

Stamm Xf ist zur Rezeptorenanalyse nicht geeignet, da seine Kolonien aus grampositiven und -negativen Keimen bestehen. Die Stämme I und X und alle ihre Varianten erweisen sich im Tierversuch (Injektion in die Pleurahöhle des Kaninchens) als apathogen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zusammenfassung.

Aus 10 Stämmen von Staphylococcus pyogenes aureus werden durch Dauerkultur im flüssigen Medium zahlreiche morphologische Varianten gewonnen. — 6 Varianten hatten ihre Gramfestigkeit ganz oder teilweise verloren. Von ihnen blieb eine (Stamm Id) dauernd vollständig, eine andere dauernd teilweise (Stamm Xf) gramnegativ. Die serologische Verwandtschaft zwischen der Variante Id und ihrem Ausgangsstamm wird genau untersucht.

Nachtrag. Zurzeit dieser Untersuchung konnten wir — wie früher Baerthlein — die variationsanregende Wirkung des menschlichen Organismus gegenüber dem Staphylococcus pyogenes aureus beobachten. Aus dem Blute einer an Sepsis post abortum erkrankten Patientin wurden dunkelgelbe Staphylokokken gezüchtet, die zunächst kein Hämoglobin auf der Menschenblutplatte bildeten. Nach 48-stünd. Wachstum sproßten aus einzelnen Kolonien seitlich kleine, transparente Sekundärkolonien hervor, die halbkreisförmig von einem hämolytischen Hofe umgeben waren. Diese Doppelkolonien ließen sich durch getrenntes Abimpfen in einen dunkelgelben, anhämolytischen und einen transparenten hämolysierenden Anteil sondern. Beide Formen bestanden aus typischen gramfesten Staphylokokken und blieben auf Menschen- und Hammelblutplatten dauernd konstant.

Literatur.

1) Neumann, Arch. f. Hyg. Bd. 30. 1897. — 2) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1918. — 3) Emmerich u. Saida, ebenda. Bd. 27. 1900. — 4) Jarotzky, ebenda. Ref. Bd. 36. 1904. — 5) Kißkalt, ebenda. Orig. Bd. 30. 1901. — 6) Deutsch, ebenda. Bd. 33. 1903. — 7) Eisenberg, ebenda. Bd. 49. 1909. — 8) Nikitine, Baumgartens Jahresber. Jahrg. 14. 1898. — 9) Simonini, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. — 10) Deussen, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 85. 1918; Bd. 93. 1921. — 11) Cederkreutz, Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 93. 1908. — 12) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. — 13) Dreyer, Kriegler u. Walker, Amer. Journ. of Path. and Bact. Vol. 15. 1911. — 14) Hottinger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. — 15) Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 35. 1922.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über Scharlach.

[K. Institut für Allgemeine Pathologie im R. Istituto di Studi Superiori zu Florenz (Direktor: Senator Prof. Al. Lustig).]

Von Privatdozent Dr. **Alessandro Amato,**

1. Assistent für Allgemeine Pathologie mit dem Lehrauftrag für Bakteriologie.

Seit einigen Jahren bin ich mit einer Reihe von Untersuchungen über Scharlach beschäftigt. Die jeweiligen Ergebnisse wurden dargelegt und mit Präparaten demonstriert durch Vorträge in der Akademie für Medizin zu Palermo, in der Accademia Medico-Fisica zu Florenz, in einer Mailänder Versammlung (1922) der Italienischen Gesellschaft für Pädiatrie, und in einer in Padua (1922) stattgehabten Sitzung der Italienischen Gesellschaft für Pathologie.

Zweck der vorliegenden Veröffentlichung ist es, diese Ergebnisse kurz zusammenzufassen, während ich mir vorbehalte, die Forschungen selbst und die angewandten Methoden der Technik ausführlicher in einer

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Arbeit darzulegen, welche mit Mikrophotographien und Zeichnungen demnächst in „Lo Sperimentale, Archivio di Biologia normale e patologica. Firenze 1923“ erscheinen wird.

Ihren Ausgangspunkt nahmen meine Untersuchungen von einem Befund, den ich seit 1912 bei morphologischen Beobachtungen des Blutes Scharlachkranker erhoben hatte und den ich zum erstenmal der Medizinischen Akademie in Palermo in deren Sitzung vom 26. April 1913 dargelegt habe.

Dieser Befund besteht darin, daß im Cytoplasma der polynukleären neutrophilen Leukozyten Scharlachkranker sich einige Körperchen befinden, deren Gestalt rundlich oder oval ist, zuweilen elliptisch oder länglich, manchmal auch wie unregelmäßige Dreiecke oder Vierecke mit abgestumpften Ecken und schließlich auch, obschon selten, wie eine Sichel oder ein Halbmond.

Mit Azur II-Eosin zeigen sie eine blaßblaue Färbung, manchmal mit scharfen Rändern, dann wieder mit weniger bestimmter und fast verschwommener Begrenzung, während in ihrem Innern sich lebhaft rot oder rot-violett gefärbte Körnchen abheben.

In der Mehrzahl der Fälle hat man nur ein einziges gut sichtbares Körnchen, zuweilen in zentraler Stellung, dann wieder exzentrisch, besonders in den länglichen Formen, während in wieder anderen Fällen die Körnchen sich in wechselnder Zahl und Anordnung in dem blaufarbigen Körper zeigen, im allgemeinen jedoch mit der Tendenz nach der Peripherie.

Schon damals glaubte ich, die von mir beschriebenen Bildungen wegen ihres morphologischen und tinktoriellen Charakters sehr wohl unterscheiden zu sollen von jenen Leukozyteneinschlüssen, welche Döhle wenige Monate zuvor zur Evidenz erhoben hatte.

Im weiteren Verlaufe meiner Studien, die durch Mangel an Material leider oft unfreiwillig unterbrochen wurden, habe ich in einzelnen Beobachtungen fast stets die vorangegangenen Befunde bestätigen können und 1921 in einer Mitteilung an die Accademia Medico-Fisica zu Florenz (Sitzung vom 14. Juli) habe ich noch besser und genauer die hauptsächlichen Unterschiede in Struktur und Färbbarkeit präzisiert, welche zwischen den von mir beschriebenen Gebilden und den sogenannten Döhleschen Körpern bestehen.

In der Tat zeigen sich die letztgenannten — nach der Beschreibung, die Döhle selbst davon gibt — unter der Gestalt runder oder ovaler Körnchen verschiedener Größe, häufig paarweise verbunden mit abgeplatteten Berührungsflächen; dann wieder hat man bazillenförmige Bildungen mit spitzen Enden, auch ist hier der Fall nicht selten, daß 2 in der Längsrichtung verkoppelt sind. In noch anderen Fällen sieht man sie als kurze dicke Fäden, die leicht gewunden sind. Schließlich trifft man sie auch birnenförmig mit einem ganz feinen, fadenförmigen Fortsatz am zugespitzten Ende.

Das ist im wesentlichen die Beschreibung, welche Döhle in seiner 1. Arbeit gibt, also bevor er die Spirochätenformen beschreibt, welche ihn veranlaßten, sich für die Spirochätennatur des Scharlach auszusprechen, eine Ansicht, mit der er fast isoliert geblieben ist und welche von anderen Forschern nicht geteilt wird.

Die Zahl der Döhleschen Einschlüsse in den einzelnen Leukozyten ist wechselnd. In der Regel finden sich 1 oder 2, manchmal aber auch bis zu 6.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Döhle hat sie beobachtet, weil sie sich färben lassen, wobei er sich einer Mischung von Orthonitrophenylpropiolsäure in alkalinischer Lösung (Reaktion von Hoppe-Seyler) und Azur II von Michaelis bediente, oder einer Mischung von Orseille mit saurem Hämatoxylin. Sie färben sich ferner blaß rosa mit der grünen Mischung von Methyl-Pyronin; mit der Methode von Giemsa hat Döhle keine besondere Färbung erreicht.

Die zahlreichen Forscher, welche in der Folge sich mit dem Studium dieser Körper beschäftigt haben, zeigten, daß man recht leicht zu einer Färbung mit den verschiedensten Methoden kommt. Außer denen, welche Döhle selbst vorgeschlagen hatte, benutzte man Giemsa, wodurch sie blaßblau gefärbt wurden, Manson-Blau, welches nach Kretschmer die am besten geeignete Färbung wäre, die Mischung von May-Grünwald etc.

Nun aber ist einmal die allgemeine Morphologie der runden oder ovalen, häufig paarweisen Formen oder der ebenfalls paarweise auftretenden Bazillenformen oder dicker gewellter Fäden oder der birnenförmigen Gestalten mit Fadenende deutlich verschieden von der Morphologie, welche die von mir beschriebenen Bildungen aufweisen. Außerdem ist aber auch die Anzahl der Döhleschen Einschlüsse in ein und demselben Leukozyten höher (1—6), als bei den von mir beschriebenen Bildungen (1 und nur ganz selten 2), und weiter sind in den ersten Tagen der Krankheit meine Einschlüsse immer recht selten im Vergleich mit den Döhleschen Körpern, die verhältnismäßig häufig sind.

Aber der fundamentale und charakteristische Unterschied besteht darin, daß im Innern der von mir beschriebenen Bildungen ein oder mehrere Körnchen liegen, die sich lebhaft rot oder rotviolett (wie das Chromatin des Malariaparasiten) färben nach der Methode Azur II-Eosin und auch, obschon minder klar, nach Giemsa und anderen ähnlichen Methoden, ein Kennzeichen, welches man niemals bei den Döhleschen Einschlüssen antrifft und das bis jetzt bei diesen niemand beschrieben hat.

Mit den von mir am häufigsten angewandten Methoden, welche ohne Zweifel die besten Resultate geben (Azur I- Azur II-Eosin oder Azur II-Eosin), gelingt es, wenn man die Farbe etwas intensiv wirken läßt, sowohl die Döhleschen Körper wie die von mir beschriebenen Bildungen zur Anschauung zu bringen.

Und an Präparaten, die ich in der Sitzung der Accademia Medico-Fisica von Florenz am 14. Juli 1921 vorgeführt habe, konnte ich zeigen, daß es möglich ist, in ein und demselben Leukozyten die Färbung der Döhleschen Körper zu erreichen, gleichmäßig intensiv blau, und gleichzeitig auch eine der von mir beschriebenen Bildungen, bestehend aus einem Körper in wesentlich blasserem Blau als bei den Döhleschen Körpern, und diese Bildung zeigt deutlich ein lebhaft rotes Granulum, das mehr oder minder exzentrisch gelegen ist.

Indessen ist bekannt, daß die Döhleschen Einschlüsse — wie die Mehrheit der Verfasser annimmt — nur Bildungen sind, welche von degenerativen Erscheinungen der Zellen herrühren und denen von den meisten Beobachtern ein nukleärer, von anderen hingegen ein zytoplasmatischer Ursprung zugeschrieben wird.

Unter dieser Annahme tut man gut, sich hier klar zu machen, daß es hinsichtlich der von mir beschriebenen Bildungen sich nicht um neu-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

trophile Granula handeln kann, die in der kleinen Zone des degenerierten Cytoplasma hängen geblieben wären.

Abgesehen von der großen Verschiedenheit in Dimension und Färbbarkeit ist folgendes zu betonen: In einigen Präparaten ist die Differenzierung der Granula des Leukozyten noch nicht abgeschlossen. Dann erscheint sein Cytoplasma ganz fein violett punktiert. Oder aber bei verschiedenen Fixierungsmethoden, besonders mit Flüssigkeiten, welche Essigsäure enthalten, sind die neutrophilen Granula nicht mehr zu erkennen. Hingegen heben sich die Granula der beschriebenen Bildungen durch ihre Farbe recht gut ab. Und weiter: bei alten Präparaten im Stadium der Entfärbung sind sowohl die neutrophilen Granula wie auch der sich blau färbende Teil der Bildungen fast oder ganz verschwunden. Aber die Granula selbst behalten bei diesen Bildungen noch auf lange Zeit ihre deutliche Färbung bei.

Auch dieser ganze Sachverhalt ist der Florentiner Akademie für Medizin und Naturwissenschaft am 21. April mit Präparaten demonstriert worden.

Es fragt sich nun, ob die von mir beschriebenen Bildungen vielleicht auch im Blute von Menschen vorkommen, welche an anderen Krankheiten leiden. Bis heute habe ich in 14 Fällen verschiedener Krankheiten (Lungenentzündung 4 Fälle, Malaria 3 Fälle, Diphtherie 2 Fälle, Erysipel 1 Fall, Polyomyelitis anter. 1 Fall, Purpura haemorrhagica 1 Fall, Leishmaniosis 1 Fall) niemals Bildungen angetroffen, welche identisch gewesen wären mit den von mir beim Scharlach beobachteten, obwohl ich hier und da Einschlüsse bemerkt habe, ähnlich den Döhleschen.

Auch im Tierexperiment (mit Kaninchen und Katzen) unter Anwendung von Diphtherietoxin, von Filtraten alter Typhuskulturen oder auch in vitro ist es mir nie geglückt, Einschlüsse zu beobachten, die den von mir beschriebenen im Blute Scharlachkranker zur Seite gestellt werden könnten, wennschon ich auch hier zuweilen einzelne Bildungen habe beobachten können, welche sich den Döhleschen Einschlüssen näherten.

Dies sind in Kürze meine Ergebnisse hinsichtlich der Leukozyteneinschlüsse.

Kurz erwähnen möchte ich hier, daß Salimbeni in der Sitzung vom 27. Juli 1914 der Académie des Sciences bei Mitteilung einiger seiner Forschungen über einen polymorphen Keim beim Scharlach berichtet, er habe in Giemsa-gefärbten Präparaten im Innern der Leukozyten Formen wie ein Ei oder wie eine Rübe beobachtet, von denen „chaque élément se montre constitué par un granule parfois central, parfois placé à une extrémité, coloré en rouge violacé, entouré d'une petite zone bleu clair."

Es ist nicht unwahrscheinlich, daß diese intraleukozytären Bildungen, wie sie Salimbeni beobachtet hat, oder wenigstens etliche von ihnen, sich auf die von mir 1 Jahr zuvor, also 1913, beschriebenen Einschlüsse beziehen.

Jedoch erst nach meiner Mitteilung vom April 1921 sind die von mir beschriebenen auch von anderer Seite zum Gegenstand von Nachforschungen gemacht worden. Ich halte den Hinweis für zweckmäßig, daß die Aufsuchung solcher Einschlüsse zwar keine sonderlichen Schwierigkeiten bietet, immerhin aber gewisse Einzelheiten der Technik erfordert, welche nicht vernachlässigt werden dürfen, wie z. B. die be-

Generated on 2019-09-17 13:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

stimmte Marke der verwendeten Farben, die Dauer der Färbung etc. sowie eine recht eingehende und sorgsame Durchmusterung der Präparate.

Auf Einzelheiten solcher Art gehe ich hier nicht ein. Einmal muß ich, wie schon gesagt, für die angewandte Technik auf meine bevorstehende ausführlichere Arbeit verweisen. Und dann hat sich auch schon Dr. Veronese in seiner Monographie „Etiologia della Scarlattina, Padova 1922" mit den genauen Einzelheiten bei Herstellung der Präparate eingehend beschäftigt.

Mochte nun Veronese die Technik befolgen, wie ich sie ihm persönlich gezeigt, oder mochte er sie durch leichte Modifikationen abändern, es ist ihm stets gelungen, die von mir beschriebenen Einschlüsse im Blute Scharlachkranker, und nur da, zu klarer Anschauung zu bringen. Der Befund blieb aber regelmäßig aus im Blute normaler Individuen oder solcher, welche an Masern, Keuchhusten, Lungenentzündung, Dysenterie, Empyem, Parotitis, Erysipel, Malaria, Dermatitis staphylococcica, Rabies erkrankt waren. Er schließt mit der Annahme, daß die „Amatoschen Körper" an die Anwesenheit des Scharlachvirus gebunden sind.

Auch Dr. G. Tron vom Mailänder Infektionskrankenhause hat sich mit Forschungen über die „Amatoschen Körper" bei Scharlach und bei verschiedenen anderen Krankheiten beschäftigt, teils im genannten Krankenhause, teils in dem von Prof. Belfanti geleiteten Istituto Sieroterapico zu Mailand. In 36 von 40 untersuchten Scharlachfällen konnte Tron die genannten Einschlüsse antreffen (bei den 4 negativen Fällen handelte es sich um Personen mit weit fortgeschrittenem Scharlach oder solche, die nur noch an Komplikationen litten, die sich ihm anschlossen). Negativ war die Nachforschung in 13 Fällen von Masern, 1 Fall von Windpocken, 3 Fällen von Pappatacifieber, 3 von Serumexanthem, 2 von toxischen Exanthemen und 3 Fällen von gesunden Personen vom Pflegepersonal aus der Scharlachabteilung des genannten Krankenhauses. Ausführlich legt er seine Ergebnisse dar in Hinsicht auf die Anwesenheit der Körper in den verschiedenen Stadien der Krankheit, in Hinsicht auf die Temperatur, auf das Exanthem und auf das Enanthem. Zum Schluß spricht er der Aufsuchung der genannten Körper auch einen erheblichen diagnostischen Wert für ganz leichte oder unsichere Fälle zu.

Sowohl nach den Forschungen Trons wie nach denen Veroneses besteht eine Beziehung zwischen der Zahl der von mir beschriebenen Leukozyteneinschlüsse und dem Stadium, in welchem sich die Krankheit befindet; sie sind zahlreicher bei den hyperpyretischen Formen und beim Beginn des Ausschlages.

Eine 2. Gruppe von Forschungen betrifft die genaue histologische Durchmusterung von Organ- und Gewebsstücken an Scharlach ohne Komplikationen gestorbener Personen, mit besonderer Rücksicht auf das etwaige Vorkommen von Zelleinschlüssen.

Auch diese Forschungen sind zum Gegenstand von Mitteilungen gemacht worden, unter Vorlegung von Präparaten. Nämlich vor der Accademia Medico-Fisica von Florenz am 6. April 1922, vor der italienischen Pathologischen Gesellschaft bei ihrem Zusammentritt in Padua (Oktober 1922) und vor der Società Italiana di Pediatria bei ihrer Versammlung in Mailand (1922). Als Ergebnis solcher Forschungen zeigten sich verschiedene Zelleinschlüsse, besonders in den Mandeln, in den Lymphdrüsen und in der Haut, worüber ich hier nur kurz berichte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Einzelne davon sind schon bekannt und von anderen Autoren beschrieben, andere hingegen sind, wie sich mir ergab, noch nicht zur Evidenz gebracht worden, wenigstens nicht beim Scharlach.

Eine 1. Art von Einschlüssen, welche ich besonders in den Mandeln und Lymphdrüsen fand, besteht aus rundlichen Körpern, wie Blasen oder Tröpfchen, von verschiedener Größe, von ganz winzigen, fast granulären bis voluminösen Tropfen. Sie finden sich innerhalb und außerhalb der Zellen, ihre Zahl schwankt; mit der Mann schen Methode gefärbt erscheinen sie lebhaft rot.

Eine 2. Art Einschlüsse, ebenfalls in den Mandeln und Lymphdrüsen, besteht aus rundlichen Bildungen verschiedener Größe. Zuweilen sind sie homogen gefärbt. In anderen Fällen hingegen bestehen sie aus einem nach der Methode von Borrel intensiv rot gefärbten Zentralkörper, der von einem grüngelben Hofe umgeben ist. Das Ganze schließlich liegt in einer kleinen Vakuole.

Diese Bildungen, welche in ihrem Aussehen stark an die Guarnierischen Körper erinnern, entsprechen höchst wahrscheinlich etlichen der Einschlüsse, welche bei den Lymphdrüsen Scharlachkranker bereits von Cantacuzène beschrieben worden sind, vielleicht auch irgendeinem der von Hoefer beobachteten Einschlüsse.

Ferner habe ich ermitteln können, ebenfalls an Mandeln und Lymphdrüsen, daß dort einige Zellelemente eine tiefgehende Modifikation ihres Kernes erleiden; er sieht aus, als hätte er Radien, fast wie eine Rosette.

Der Zellkern verwandelt sich so in ein System keulenförmiger Gebilde, mit dem spitzen Ende gegen das Innere des Zellelementes gerichtet, während das dicke Ende jedes dieser Massenteilchen nach der Peripherie des Zellelementes weist. Die betroffenen Elemente nehmen in dieser Weise ein Aussehen an, welches an die Malloryschen Körper in der Haut Scharlachkranker erinnert, denen man den Namen „Chrysanthemumformen“ gegeben hat, noch mehr vielleicht an die sogenannten Strahlzellen unter den Hornhautzellen von Kaninchen, die mit Variolavirus infiziert wurden. Gins, der dieselben jüngst beschrieben hat, bringt sie mit der Entwicklung des Virus im Hornhautepithel in Beziehung.

In der Haut ermittelte ich außer den bekannten Malloryschen Körpern in den Epithelzellen umfangreiche Vakuolen. Darin Fäden verschiedener Größe und in wechselnder Verschlingung. Sie färben sich rot mit der Methylgrün-Pyroninmethode.

Ferner habe ich unmittelbar unter der Malpighischen Schicht, zuweilen auch noch tiefer im Derma, die Anwesenheit kleiner Massen von verschiedener Größe beobachtet, meistens rundlich, sich blau färbend nach Giemsa und mit Azur II-Eosin. Zuweilen, wenn auch nicht scharf, lassen sie in ihrem Innern einen Anflug von Differentiation eines Zentralkörpers erkennen, mit der Tendenz, wie es scheint, zur Annahme einer violettartigen Färbung.

Doch außer diesen Befunden konnte ich noch andere erheben, die mir nicht minder interessant erscheinen.

So habe ich in der Haut von mitten in der Ausschlagperiode gestorbenen Scharlachkranken die Anwesenheit von perivasalen Infiltrationen beobachten können. Sie werden größtenteils von mononukleären Elementen nach Art von Lymphozyten gebildet, von größeren Mononukleaten mit reichlichem Cytoplasma und großem Kern, von einer wechselnden Zahl von Plasmazellen vom Typus Unna-Marschalkó

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und nur von ganz wenigen Polynukleaten. Das Gefäßendothel erscheint bisweilen gedunsen und kann sich auch von der Gefäßwand loslösen.

Solche perivasalen Infiltrationen zeigen sich bisweilen dicht und ohne Unterbrechung dem Verlaufe des Gefäßes folgend, in anderen Fällen minder dicht, in Knötchen, so daß sie in ihrer Gesamtheit an die perivasalen Knötchen erinnern, welche Fränkel bei Typhus exanthematicus beschreibt.

Schließlich habe ich noch in den Mandeln wie in den Lymphdrüsen kleine Körnchen angetroffen, welche in kleinen intrazellulären Häufchen vereint, häufiger aber extrazellulär erscheinen, auch zerstreut über das Gesichtsfeld des Präparates hin. Diese Körnchen färben sich rot oder rot-violett mit Giemsa und Azur II-Eosin.

Ein Befund granulärer Formen in Geweben und Organen Scharlachkranker ist gewiß nicht neu. Paschen, Cantacuzène, Bernhardt und Höfer haben granuläre Formen beschrieben von anderer Art und wahrscheinlich auch von anderer Herkunft.

Ohne in eine genaue Erörterung der einzelnen, von jenen Autoren beschriebenen Formen einzutreten, will ich nur kurz sagen: mir scheint, die von mir beobachteten granulären Formen können höchstens zu den von Bernhard beschriebenen in nähere Beziehung gebracht werden, wenn auch dieser Forscher sie nur beschreibt als intrazelluläre Anhäufungen in den retikulären endothelialen Zellen der mesenterischen Lymphdrüsen und im Nierenepithel, im Aussehen den Trachomkörpern ähnlich.

Bernhard selbst macht in seiner Arbeit schon eine Andeutung, wie schwierig es sei, die von ihm beschriebenen Formen von zellulären Zerfallsprodukten zu unterscheiden. Ich gestehe, auch ich bin bei der Deutung meiner Befunde in Verlegenheit gewesen. Man konnte einerseits an Zellgranulation denken. Andere Umstände konnte man hingegen für eine zwar nicht absolute und scharfe Differentiation ansprechen; die Färbbarkeit mit der ausgesprochenen Tendenz zum Rot, einzelne Achter- und Hantelformen, die eine Deutung auf Teilung gestatteten, ihre winzigen Dimensionen und schließlich das Auftreten von kleinen Gruppen weniger Granula in begrenzten, umschriebenen Bezirken des Cytoplasmas der Zellelemente.

So war ich also in derselben Ungewissheit, in welcher sich Bernhardt befunden hatte und in welcher sich diejenigen befanden und noch befinden, welche die Rickettsia Prowazeki im Gewebe des Menschen untersuchen. Wie ihnen, war es mir beinahe oder ganz unmöglich, klar und scharf zu unterscheiden zwischen den kleinen Granulationen, die vielleicht Mikroorganismen von äußerst kleinen Dimensionen darstellen, und eventuellen Zellgranula, Degenerationsprodukten etc.

Welche technischen Methoden ich auch immer versucht habe, nie habe ich zu so bestimmten und absoluten Ergebnissen gelangen können, daß ich damit die Ungewißheit hätte lösen können.

Angesichts dieses Hindernisses, das mit morphologischen Methoden vielleicht nicht überwunden werden kann, habe ich mich zu Kulturversuchen gewandt:

Bei meinen Kulturversuchen hielt ich mir gegenwärtig, daß Analogien bestehen zwischen meinen oben beschriebenen Befunden und denjenigen, welche andere Autoren bei einer ganzen Gruppe von Viruskrankheiten erzielt haben, bei denen das Virus noch nicht recht bekannt ist. Es sind die Krankheiten, die man gemeiniglich unter die Strongylo-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

plasma- und Chlamydozoenkrankheiten einreiht, und es besteht heute die Neigung, auch die Rickettsien dieser Erregergruppe anzuschließen. Ich habe mich hauptsächlich der verschiedenen Nährböden bedient, welche vorher von anderer Seite — und manchmal auch mit Erfolg — bei der Kultur der sogenannten filtrierbaren Erreger und bei der Kultur von Rickettsien benutzt worden waren. Ich bediente mich derselben teils genau wie die Vorgänger, teils mit verschiedenen eigenen Modifikationen.

Die ganze Reihe der gemachten Versuche soll hier nicht aufgezählt werden. Ich begnüge mich damit, die wesentlichen Ergebnisse anzudeuten und verweise auch für diesen Teil meiner Forschungen hinsichtlich der technischen Einzelheiten auf meine ausführliche Arbeit.

Meine Kulturversuche wurden immer mit Krankenblut gemacht von klinisch typischen Scharlachfällen zwischen dem 1. und 5. Tage seit Beginn des Ausschlages.

Bei solchen Versuchen ist es mir gelungen, in dem Kondensationswasser geeigneter fester Nährböden oder in flüssigen Nährböden vorzugsweise in Aërobiose, seltener bei Anaërobiose, nach 8—10 Tagen Brutschrank eine Trübung zu beobachten, auf welche die Bildung eines feinen, weißlichen Niederschlages folgte, oberhalb des Bodensatzes von roten Blutkörperchen, die noch keine deutlichen Anzeichen von Hämolyse aufweisen.

In Präparaten, die aus solchen Kulturen mit den üblichen Methoden bakteriologischer Technik gewonnen waren, trifft man im allgemeinen nichts, was an bekannte Mikrobenformen erinnerte. Nur zuweilen beobachtet man in nach Loeffler gefärbten Präparaten mitten zwischen den Eiweißtrümmern des Bodensatzes ganz feine Körnchen, die schwer herauszuerkennen sind; und in Giemsa-Präparaten bekommt man violettrot gefärbte, kleine Granula zu Gesicht; doch auch hier ist der Befund wenig klar und nicht beweiskräftig.

Wenn ich das Kulturmaterial mit dem Paraboloid beobachtete, dann habe ich ganz deutlich die Anwesenheit winzigfeiner Granula bemerkt, deren Bewegung zwar nicht gerade lebhaft war, doch sichtlich intensiver als die gewöhnlichen Brownschen Bewegungen.

Doch auch dieser Befund hat mich noch sehr in Zweifel gelassen. Man weiß ja, wie schwer es ist, wenn nicht unmöglich, im Dunkelfeld einen Unterschied zu machen zwischen etwaigen parasitären Körpern von granulärer Form und kolloidalen Teilen, die in der beobachteten Flüssigkeit schweben. Die Beweglichkeit konnte hier nicht mit Sicherheit behauptet werden. Denn sie war nicht so stark bei den beobachteten Körpern, daß man mit Gewißheit Eigenbewegung hätte annehmen müssen. Bei längerer Beobachtung war es zwar möglich, belangreiche Ortsveränderungen der einzelnen Granula im Beobachtungsfelde festzustellen, und zwar in verschiedenen Richtungen, derart, daß sie sich ganz unabhängig zeigten von etwaigen schwachen Flüssigkeitsströmungen. Aber auf der anderen Seite ist bekannt, wie die Brownschen Bewegungen von verschiedenen Faktoren (Wärme, Licht usw.) beeinflußt werden können. Nach neueren Studien von Gouy, Siedentopf, Einstein und Perrin ist die Brownsche Bewegung völlig unregelmäßig, ihre Intensität ist proportional der Molekularenergie und indirekt proportional der Viskosität und den Dimensionen der Granula.

Groß an Zahl waren sodann meine Versuche, gefärbte Präparate zu erlangen und die Kulturen serienweise zu übertragen. Durch Lebend-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

färbung mit Brillantcresylblau ist es mir möglich geworden, einige Tatsachen zu bestätigen, welche sich mir schon bei Durchmusterung des Dunkelfeldes enthüllt hatten. Ich meine das Vorhandensein ganz kleiner Granula, isoliert, paarig, in Achter- oder Hantelform. Wenn die Kulturen älter sind, dann gibt es auch Anhäufungen von 4—6 oder mehr Granula.

Rings um einige Elemente sodann, wenn sie etwas größer sind, entweder in Zwillingsform oder auch in kleinen Anhäufungen, sieht man einen zarten Hof, von dem jedoch schwer festzustellen ist, ob er zu den korpuskulären Bildungen gehört oder nicht.

Es ist aber der Hinweis angebracht, daß die Färbung, welche die Granula im allgemeinen mit Brillantcresylblau annehmen, nur sehr leicht ist. Für eine gute Durchmusterung ist es unumgänglich, in geeigneter Weise einzublenden.

Wenn dann im weiteren Verlaufe die Kulturen älter werden, werden die kleinen Granula immer spärlicher. Dafür erscheinen umfangreichere Granula; ihre Dimensionen liegen wenig unterhalb der Größe eines gewöhnlichen Coccus. Die Anhäufungen nehmen zu.

Um zu Präparaten von beständiger Färbung zu gelangen, habe ich es mit zahlreichen Methoden versucht, welche die verschiedenen Verfasser für die Färbung der sogenannten Elementarkörper filtrierbarer Erreger vorgeschlagen haben.

Ohne mich bei den Ergebnissen der einzelnen Methoden aufzuhalten, möchte ich nur sagen, die besten Erfolge wurden im allgemeinen mit Methoden erzielt, bei denen die Farbflüssigkeit Stoffe enthält, welche imstande sind, wie Beizen zu wirken, zumal wenn der Färbung des Präparates die Anwendung hypotonischer Lösungen vorausgegangen ist, oder auch eine Anwendung von verdünntem Wasserstoffhyperoxyd, um den Grund aufzuhellen.

Gute Erfolge hatte ich auch mit der Mischung Azur II-Eosin oder mit Bieosinat Tribondeau, Methoden, bei welchen man, besonders wenn man sorgsam differenziert, dazu gelangen kann, die Granula deutlich rot oder rotviolett zu färben.

Auch bei fixierten Farbpräparaten hat man denselben Befund, d. h., es zeigen sich kleine Granula, hier und da Achter- oder Hantelformen, Diploformen, während in Präparaten, die aus alten Kulturen abgenommen wurden, der Befund im wesentlichen aus Granula verschiedener Größe besteht und aus Anhäufungen solcher.

Wesentlich mühevoller waren die auf Erlangung von Serienkulturen gerichteten Arbeiten. Ich will gleich sagen, daß dieses Problem für mich noch ungelöst ist. Es sei nur das Wesentliche angedeutet.

Das regelmäßige Scheitern der Versuche von Serienübertragung bei den ersten Experimenten brachte mich dazu, es mit der Methode der Collodiumbeutel zu versuchen. Unter der umfangreichen Scharlachliteratur findet sich eine Arbeit von Cantacuzène mit dem Bericht über ein vereinzeltes Experiment. Er berichtet, er habe in einem Falle einen mit Scharlachblut beimpften Collodiumbeutel im Peritoneum eines Kaninchens angebracht. Nach 10 Tagen konnte er im Peritoneum eine Reinkultur bipolarer, schwer färbbarer und nicht übertragbarer Formen beobachten.

Cantacuzène ist auf dergleichen Experimente nicht zurückgekommen. Im Gegenteil, in 2 späteren Arbeiten lenkt er die Aufmerksamkeit auf einen an Scharlachkranken isolierten polymorphen Keim,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der augenscheinlich mit den genannten bipolaren Formen nichts zu tun hat. Es handelt sich in der Tat um einen unbeweglichen, gramnegativen Keim, der sich auf festen Nährböden unter Zusatz von Serum und defibriniertem Blute leicht entwickelt und welcher die Gelatine flüssig macht.

Ich erinnerte mich des oben erwähnten vereinzelten Experimentes Cantacuzènes. War es auch bei dem gegenwärtigen Stande der Dinge nicht möglich, irgendeine etwaige Beziehung zwischen den von ihm beschriebenen bipolaren Formen aufzustellen, so habe ich es doch mit derselben Technik versuchen wollen, in der Hoffnung, das Wachstum in den Nährböden zu erleichtern und möglicherweise auch zu einer Serienübertragung zu gelangen.

Meine Versuche haben mir nun gezeigt, daß es nicht allein möglich ist, in einem in der Bauchhöhle eines Kaninchens angebrachten Collodiumbeutel die granulären Formen zur Entwicklung zu bringen. Mehr noch, und das scheint mir der Hervorhebung wert, man kann in dem Beutel zu gleicher Zeit die von mir studierten Körper und Streptokokken entwickeln.

Unter 8 von mir gemachten diesbezüglichen Versuchen sind in 2 Fällen die Beutel völlig steril geblieben; in 4 Fällen kam es nur zur Entwicklung der granulären Formen, welche identisch waren mit den durch Kulturen gewonnenen, über die ich vorher eine Andeutung machte; in 2 Fällen wurde erreicht, daß gleichzeitig granuläre Formen und der Streptococcus sich entwickelten.

Und bei den von diesen letzten Fällen entnommenen Präparaten gelingt es leicht, die relativ voluminösen und intensiv gefärbten Streptokokkenelemente von den winzigen, teils einzeln, teils gekoppelt liegenden Granula zu unterscheiden, welche sich im nämlichen Präparate befinden. Abgesehen davon gestattet die Färbung mit Azur II-Eosin oder mit Bieosinat Tribondeau, wenigstens wenn sorgsam differenziert wird, die voneinander abweichenden tinktoriellen Eigenschaften zur Evidenz zu erheben. Der Streptococcus färbt sich intensiv blau, die granulären Formen rot oder rotviolett.

Hinsichtlich der reihenweisen Uebertragung in vitro wäre zu sagen: Von der Entwicklung im Collodiumbeutel aus ist es mir nur möglich gewesen, mit Mühe und Not es bis zu einer 3. Passage zu bringen. Ich brachte dabei den Inhalt des Beutels 2 aufeinanderfolgende Male auf einen von mir erdachten, unter Verwendung menschlicher Haut hergestellten Nährboden. Noch eine 4. Ueberpflanzung gelang sodann, unter Benutzung eines besonderen Nährbodens, mit welchem ich meine Forschungen noch fortsetze und den ich seinerzeit bekannt geben werde.

Dies ist bisher mein bestes Ergebnis, das ich mit Reihenübertragungen gewonnen habe.

Es ist wohl überflüssig, zu sagen, in denjenigen Fällen, bei welchen es im Collodiumbeutel, abgesehen von den granulären Formen, auch zur Entwicklung von Streptokokken kam, bekamen diese letzteren bei den nachfolgenden Uebertragungen in vitro rapid das Uebergewicht. Die Präparate, welche ich durch Kulturen in vitro und durch Collodiumbeutel bekommen habe, wurden von mir der Florentiner Accademia Medico-Fisica in der Sitzung vom 6. April und vom 29. Juni 1922 sowie der italienischen Pathologischen Gesellschaft bei deren Zusammentritt in Padua (Oktober 1922) vorgeführt.

* * *

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Um die Natur und die ätiologische Bedeutung der von mir beschriebenen und kulturell dargestellten granulären Formen aufzuhellen, wäre es gewiß recht interessant, wenn sich mit ihnen die Krankheit experimentell hervorrufen ließe. Ohne Zweifel würde das von der größten Wichtigkeit sein. Unglücklicherweise befinden wir uns bei Scharlach einer Krankheit gegenüber, deren experimentelle Hervorrufung ganz besondere Schwierigkeiten bietet. Die gewöhnlichen Laboratoriumstiere nehmen die Krankheit experimentell nicht an. Nur über das Kaninchen sind die Ansichten geteilt: Cantacuzène behauptet, das Kaninchen reagiere auf das Scharlachgift mit Temperaturanstieg nach einer Inkubationszeit von recht wechselnder Dauer, mit Exanthem, welches sich nach ihm durch Röte der Bauchdecke, der Achselhöhlen und der Innenseiten der Glieder äußert, in der Folge dann Abschuppung.

Wenn man Kaninchen Scharlachvirus injizierte, das durch Berkefeld-Filter filtriert war und welches bei der Aussaat auf gewöhnliche Nährböden keinerlei Entwicklung von Keimen zur Folge hatte, haben auch Casagrandi und Veronese beträchtliche Temperatursteigerungen beobachtet. Von Anderen jedoch, besonders von Klimenko, wird eine solche Empfänglichkeit des Kaninchens gegenüber dem Scharlachvirus stark bestritten. Auch für niedere Affen ist die Möglichkeit experimenteller Uebertragung des Scharlach kontrovers.

Außer Cantacuzène und Bernhard haben alle Beobachter ständig negative Ergebnisse gehabt, selbst wenn man die Widerstandskraft der Tiere durch Aderlässe minderte, wie das Droper und Hanford getan haben.

Nur anthropomorphe Affen sind nach Levaditi, Landsteiner, Praseck, Danulesco gleichmäßig empfänglich.

Dadurch wird es für mich äußerst schwer, Versuche über experimentelle Uebertragung des Scharlach zu machen, um zu sehen, ob das Kulturmaterial, welches die von mir beschriebenen Körperchen enthält, auf zweifellos dafür geeignete Tiere sich übertragen läßt.

Uebrigens würden im gegenwärtigen Stadium meiner Untersuchungen die Versuche doch nur einen recht bedingten Wert haben. Denn da die Reihenübertragung der Kulturen versagt, könnte ein eventueller Einzelerfolg nicht den Zweifel zerstreuen, ob man es nicht in dem Kulturnährboden vielmehr nur mit einer immer größeren Verdünnung des ursprünglichen virulenten Blutes zu tun habe.

Verhehlte ich mir somit nicht, welch relativen Wert bei den für mich vorliegenden Voraussetzungen Tierexperimente haben könnten, habe ich doch junge Kaninchen und Meerschweinchen subkutan, intraperitoneal und intravenös geimpft mit 15—20-täg. Kulturen, welche die von mir beschriebenen granulären Formen enthielten, deren Uebertragung auf die üblichen Kulturnährböden ohne Erfolg geblieben war.

An den Meerschweinchen war nichts Bemerkenswertes zu beobachten. Höchstens zuweilen, besonders nach intraperitonealer Injektion, ein fast sofortiger Temperaturanstieg von kurzer Dauer.

Auch bei Kaninchen waren die Ergebnisse größtenteils negativ. Nur bei einzelnen Tieren zeigten sich nach intraperitonealer Einspritzung Aeußerungen, welche mit den von Cantacuzène beobachteten eine gewisse Aehnlichkeit haben, wenn es sich um Einbringung von Blut oder Lymphdrüsenextrakt Scharlachkranker gehandelt hatte.

Nur bei einem Experiment haben derartige Aeußerungen — besonders der Temperaturanstieg nach einer Inkubationszeit von verschie-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dener Dauer — sich reproduzieren lassen. Es handelte sich um eine Reihe von 3 jungen Kaninchen: das Blut des einen, entnommen während der Periode der erhöhten Temperatur, war intraperitoneal dem anderen injiziert worden.

Solche Experimente sind auf den ersten Blick vielversprechend. Man könnte sie anführen, um die Möglichkeit zu erweisen, bei jungen Kaninchen durch Injektion der von mir kultivierten Körper Symptome hervorzurufen, ähnlich denen, welche Andere beim gleichen Tiere nach Injektion von Blut und Lymphdrüsen Scharlachkranker erzielt hatten; außerdem die Möglichkeit, bei Kaninchen die reihenweise Uebertragung der krankhaften Aeußerungen darzutun. Indessen glaube ich, vorerst über solche Experimente mir weitestgehende Reserve auferlegen zu sollen.

Ich gestehe, ich habe nicht das Gefühl, daß diesen vereinzelten Versuchen zu großer Wert zukommt. Und ich halte mich nicht für befugt, wie die Dinge zurzeit liegen, die an den genannten Tieren beobachteten Zeichen mit Sicherheit als experimentellen Scharlach anzusprechen. Aus verschiedenen Gründen.

Vor allem ist die ganz flüchtige Röte, wie ich sie auf der Haut einzelner Kaninchen nach der Impfung beobachtet habe, in keiner Weise mit dem Scharlachexanthem des Menschen zu vergleichen. Die leichte, beinahe purpurfarbene Abschuppung unterscheidet sich wenig von derjenigen, welche man zuweilen auch bei völlig normalen Kaninchen beobachten kann.

So bliebe also nur der Temperaturanstieg. Aber der ist unregelmäßig, wenig beständig; die Zeitperiode, welche zwischen der Impfung und dem Temperaturanstieg verläuft, ist recht wechselnd. Das Alles bietet nichts Charakteristisches, was uns gestatten könnte, ein wohldefiniertes Bild zu gewinnen, das man, wenn auch nicht gleich als wirklichen und eigentlichen experimentellen Scharlach, so doch als eine beständige und charakteristische Aeußerung ansehen dürfte, die das Scharlachvirus im Kaninchen auslöst.

Wenn ich solche Versuche kurz erwähnte, so glaube ich doch, was ihre Ausdeutung betrifft, mir alles Nähere vorbehalten zu sollen, mindestens bis meine gegenwärtigen experimentellen Studien zu einem Abschluß gekommen sind.

* * *

Andeuten möchte ich schließlich, daß es mir in jüngster Zeit möglich geworden ist, auch in Präparaten von Speiseröhrenexsudat, entnommen — wie bei den Mandeln — in den ersten Krankheitstagen, granuläre Formen zur Darstellung zu bringen, morphologisch und tinktoriell denen ähnlich, welche aus der Tonsillenregion, aus den Lymphdrüsen und aus Blutkulturen stammen.

Doch auch diese Beobachtungen sind noch zu gering an Zahl und gestatten mir noch keine definitive Feststellung.

* * *

Dies sind, summarisch und objektiv, die Ergebnisse meiner langwierigen Bemühungen. Ich möchte mich nicht in Hypothesen ergehen, noch möchte ich endgültige Folgerungen ziehen, welche billigerweise verfrüht erscheinen könnten. Aber ich meine, man wird eine weitgehende Analogie bemerken zwischen meinen Scharlachbefunden und den Befunden anderer bei anderen Krankheiten, deren Virus, wenn auch nicht völlig unbekannt, doch wenigstens noch nicht allgemein anerkannt ist.

Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Ich denke an die Chlamydozoen-Strongyloplasmakrankheiten und an jene anderen, welche, wie man annimmt, von der Rickettsia herrühren, Mikroorganismen, die man heute in eine einzige Gruppe zusammenschließen möchte.

Wir sahen feinste Granulationen, die sich mit Azur II-Eosin und Bieosinat Tribondeau rot färben. Ich habe zur Evidenz gebracht, daß sie im Innern der Leukozyteneinschlüsse, in den Mandeln und Lymphdrüsen sich finden, Organe, von welchen heute allgemein angenommen wird, daß das Scharlachvirus in ihnen seinen Sitz hat. Wirkliche Serienkulturen sind mir noch nicht gelungen. Immerhin habe ich die granulären Formen auf besonderen Nährböden kultivieren können und in Collodiumbeuteln in der Bauchhöhle von Kaninchen. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß sie in der Aetiologie des Scharlach eine nicht geringe Bedeutung besitzen.

Aber, ich wiederhole, jede definitive Behauptung erscheint mir heute noch verfrüht. Aufgabe dieser Veröffentlichung ist es allein, die Aufmerksamkeit auf die bisherigen Befunde zu lenken, deren Erweiterung vorbehalten bleibt.

Literatur.

Ich beschränke mich darauf, in diesem kurzen Verzeichnis nur diejenigen Arbeiten aufzuführen, welche mit den bekanntgegebenen Forschungen am engsten zusammenhängen.

Amato, A., Lo Sperimentale. 1913—1921—1922. — Döhle, Centralbl. f. Bakt Abt. I. Bd. 65. 1912. — Salimbeni, Compt. Rend. Ac. d. Scienc. 1914. — Veronese, Sull'etiologia della scarlattina. (Tip. Pizzati & Scudier). Padova 1922. — Tron, Lo Sperimentale. 1922. — Cantacuzène, Compt. Rend. Soc. Biol. 1911; Sem. méd. 1914. — Bernhardt, Dtsch. med. Wochenschr. 1911. — Höfer, ebenda. 1911. — Casagrandi, Boll. Soc. med. Chir. di Cagliari. 1910. — Klimenko, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 65. 1912. — Landsteiner, Levaditi, Prascck, Ann. Inst. Pasteur. 1911. — Landsteiner, Levaditi, Danulesco, Compt. Rend. Soc. Biol. 1912. — Gins, Zeitschr. f. Hyg. 1922.

Florenz, Januar 1923.

Nachdruck verboten

Ueber eine menschliche Infektion mit einem Bakterium aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie (Pasteurellose).

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten zu Hamburg (Direktor: Obermedizinalrat Prof. Dr. Nocht).]

Von **Martin Mayer** und **R. Höppli.**

Am 6. Januar 1923 wurde von dem einen von uns (Höppli) die Obduktion eines Mannes ausgeführt, der unter dem Verdacht einer allgemeinen Gonokokkeninfektion gestorben war. Die bakteriologische Untersuchung der bei der Obduktion steril gewonnenen Herzbeutelflüssigkeit ergab, daß es sich nicht um solche, sondern um ein Bakterium aus der Gruppe der „bipolaren" Stäbchen, der hämorrhagischen Septikämie, handelte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auszug aus dem Krankenblatt.

K., 23 Jahre. Im Krankenhaus vom 23. April 1922 bis 5. Jan. 1923; gestorben 5. Jan. 1923.

Anamnestisch: 1920 Gonorrhoe, die unter spezifischer Behandlung abheilte. Am 16. April 1922 erneute Infektion mit Gonorrhoe. Befund: Ausfluß aus der Harnröhre mit reichlich Gonokokken. Schwellung und Schmerzhaftigkeit beider Kniegelenke. Bei der Punktion beider Kniegelenke am 29. April 1922 Entleerung von etwa 200 ccm trüber Flüssigkeit. In Leukozyten des Exsudats Doppelkokken nachgewiesen. Blutkultur am 28. April 1922 blieb steril.

Erscheinungen von Nephritis: Im Urin Leukozyten, Erythrozyten, granulierte und Epithelzylinder, Epithelien, Eiweiß zunächst bis 4 Prom. Esbach. Später steigende Eiweißmenge bei zunächst noch guter Diurese. Blutdruck 175:70. Dauernde nephritische Oedeme an Rückenhaut, Bauchhaut und Oberschenkeln, in ihrer Stärke und Ausdehnung periodisch schwankend. Blutbefund: Abnahme der Erythrozyten bei mäßiger Vermehrung der weißen Blutelemente (9—11000 pro cmm). Leichte relative Vermehrung der Lymphozyten.

Gegen das Ende der Krankheit pneumonische Veränderungen. Rechtsseitige fibrinöse Pleuritis. Hydrothorax beiderseits, Atemnot, Herzbeschwerden ohne objektiv nachweisbare Pericarditis oder Klappenläsionen. Abnahme der Urinausscheidung, urämische Symptome. Exitus im Koma. Temperatur schwankend, meist unregelmäßig erhöht.

Therapie: Gonorrhoische Urethritis lokal behandelt; Gonarthritis: Stauung, Hitzebehandlung, Yatren-Kaseininjektionen. Nach Resorption der Ergüsse in den Gelenken Ruhigstellung mit Rücksicht auf die Schwere des Allgemeinzustandes. Diätetische und symptomatische Nephritisbehandlung. Aderlässe, Kreislaufbehandlung.

Obduktionsbefund.

Gestorben 5. Jan. 1923, seziert 6. Jan., 21 Std. post mortem.

Makroskopisch (Schädelhöhle nicht eröffnet).

Brusthöhle: Reichlich gelbe Flüssigkeit im Pleuraraum beiderseits. Der Inhalt des rechten Pleuraraumes ist trüb und mit Fibrinflocken durchmischt. Die Oberfläche der rechten Pleura zeigt Fibrinauflagerung. Die Lungen lassen auf der Schnittfläche reichlich schaumige Flüssigkeit austreten. Farbe der Lungen braunrot. Pericardium parietale verdickt. Oberfläche des Herzens mit Fibrinauflagerungen bedeckt. Im Herzbeutel etwas vermehrte Menge trüber Flüssigkeit. Geringe Dilatation und Hypertrophie beider Herzhälften. Myocard gelbbraun.

Bauchhöhle: Sehr reichlich gelbe, nur wenig getrübte Flüssigkeit in der freien Bauchhöhle. Peritoneum glatt und glänzend. Konsistenz der Bauchorgane etwas erhöht. Leber auf der Schnittfläche gelbbraun. Läppchenzeichnung nicht deutlich, das gleiche gilt für die Follikelzeichnung der Milz. Die Nieren zeigen auf der Oberfläche und Schnittfläche eine ausgesprochen gelbe, mit roten Bezirken untermischte Farbe. Die Kapsel läßt sich leicht abziehen. Die übrigen Bauchorgane makroskopisch ohne Besonderheiten.

Knöcherne Ankylose beider Kniegelenke.

Mikroskopisch: Technik: Formalinfixierung, Gefrier- und Paraffinschnitte. Färbung mit Hämatoxylin-Eosin, Sudan-Karbolthionin, Methylgrün, Pyronin, Eisenreaktion in Leber und Milz.

Lunge: Geronnene Flüssigkeit in den Alveolen, durchsetzt von spärlichen polymorphkernigen Leukozyten und sehr reichlich mit Pigment beladenen Alveolarepithelien. Die Wandungen der Alveolen sind verdickt, zum Teil sogar stark bindegewebig; verstreut darin eingelagert gelbbraune bis braunschwarze Körnchen und gröbere verklumpte Massen. In den Alveolen spärlich uncharakteristische kleine plumpe Bakterien.

Herz: In beginnender Organisation begriffene Fibrinauflagerungen auf dem Pericard. Infiltration des perikardialen Gewebes mit einkernigen Rundzellen, sehr spärlich Plasmazellen. Blutgefäße des Perikards stark gefüllt. Zwischen den Fibrinmassen und in den Infiltraten Bakterien, die sich zum Teil wie Diplokokken, zum Teil wie kurze Stäbchen mit Polendenfärbung ausnehmen. Ablagerung von Pigment und feinen Fetttröpfchen im Myokard.

Leber: Leberzellbalken verschmälert. Kapillaren stark mit Blut gefüllt. Die Wandungen der Blutgefäße, insbesondere der Venae centrales verdickt. Ablagerung einer geringen Menge eines gelbbraunen nicht eisenhaltigen Pigments in den Leberzellen. Starke Hämosiderose der Kupfferschen Sternzellen. Einlagerung dicker Fetttropfen in den peripheren Teilen der Acini. Leichte Rundzelleninfiltration des periportalen Gewebes.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Milz: Follikel sehr klein. Starke Vermehrung der Pulpazellen. Wucherung und Abstoßung der Reticuloendothelien und des Endothels der kapillaren Venen. Reichlich eisenhaltiges und eisenfreies Pigment frei und phagozytiert.

Niere: Hochgradig verändert. Zahlreiche, mehr oder weniger vollständig bindegewebig, bzw. hyalin verödete Glomeruli. Starker Untergang der Harnkanälchen mit kompensatorischer Erweiterung anderer. Die nicht verödeten Glomeruli haben teilweise verdickte Kapseln, einzelne zeigen Kernvermehrung, vereinzelt finden sich Erythrozyten im Kapselraum. Starke Vermehrung des interstitiellen Bindegewebes mit Rundzelleninfiltration. Im Sudanpräparat verstreut hochgradige Fetteinlagerung in den Epithelien der untergehenden Kanälchen.

Rectum: Mucosa entzündlich infiltriert mit polymorphkernigen und einkernigen. Kleine Hämorrhagien und Bezirke mit abgestoßenem Epithel.

Penis: Starke, in erster Linie aus Plasmazellen bestehende, entzündliche Infiltration der Urethraschleimhaut. Prostata und Samenblasen ohne Befund.

Bakteriologischer Befund.

Aus der steril entnommenen, ca. 2 ccm betragenden, serös-trüben Perikardialflüssigkeit werden am 6. Jan. 1923 sofort nach der Obduktion Kulturen auf Ascites-Agar, Glyzerin-Agar und Loeffler-Serumplatten angelegt.

7. Jan. Auf Aszites- bzw. Glyzerin-Agarplatten reichliches Wachstum helldurchscheinender, schleimig aussehender, glattrandiger, großer Kolonien. Auf deu Serumplatten (die ziemlich trocken waren) vereinzelte, etwas metallisch glänzende, glattrandige Kolonien.

Die mikroskopische Untersuchung ergab: Kleine, ca. 0,3 μ breite und 1—$1^1/_2$ μ lange, unbewegliche, plumpe Stäbchen, teilweise diplokokkenartig aussehend, die sich mit Methylenblau und Karbolfuchsin leicht färben und deutliche Polendenfärbung zeigen. Vereinzelte Formen sind etwas größer, stäbchenförmig, aber auch stets durch stärkere Färbung der Peripherie ausgezeichnet. Sie sind gramnegativ und zeigen keine Kapseln.

Die weitere kulturelle Untersuchung ergab:

1. Auf Agarplatten: Oberflächliche Kultur nach 24 Std. üppig, saftig, hellgelblich am Rande durchscheinend, nicht granuliert, Ränder glatt. 2. Gelatineplatten: Runde, glattrandige, gelbliche Kolonien, keine Verflüssigung. Gelatinestichkultur: Gelblichgrauer konfluierender zarter Strang. Bouillon: Zunächst gleichmäßige Trübung, in manchen Röhrchen leichte Häutchenbildung, nach einigen Tagen bröckeliger Bodensatz. Drigalski-Platten: In 24 Std. kleine, durchscheinende, blaue Kolonien; auch später keine Säurebildung. Lackmusmolke: Keine Rötung. Traubenzuckerbouillon: Mäßig starke Gasbildung. Milchzuckerbouillon: Keine Gasbildung. Barsiekow-Nährboden mit Mannit: Nach 24 Std. blau, kein Gas; desgl. mit Saccharose: Nach 24 Std. blau, kein Gas; desgl. mit Maltose: Nach 24 Std. rot, etwas trüb, kein Gas. Kartoffeln: Kein Wachstum. Milch: Nicht aufgehellt, nicht koaguliert. Indol: Mäßig positiv. Schwefelwasserstoff: Mäßig positiv.

In späteren Abimpfungen der Agarkulturen ist die Polendenfärbung nicht immer so deutlich wie in den ersten.

Tierversuche.

1) 9. Jan. 1923. 1 Maus mit ca. $^1/_{10}$ Oese subkutan geimpft.

10. Jan. tot. Lungen hellrot, frisch pneumonisch. Sonst makroskopisch nichts Auffallendes, insbesondere keine Hämorrhagien. In Ausstrichen von Lungen und Milz zahlreiche bipolare Stäbchen, auch kürzere Fäden, keine Kapselbildung (Alkoholfixierung). Kulturen ergeben die typischen Ausgangsbakterien.

2) 17. Jan. Eine Maus mit $^1/_4$ Oese subkutan geimpft. 20. Jan. tot. Milz sehr groß, Lungen pneumonisch, Hyperämien, keine Hämorrhagien. In Organausstrichen die Ausgangsbakterien. Histologische Untersuchung: Leber: Wucherung und zum Teil Abstoßung der Kupfferschen Sternzellen. Verstreut Untergang von Leberzellen. Massenhaft bipolare Stäbchen in den Kapillaren und größeren Gefäßen. In letzteren liegen sie oft in Häufchen (postmortale Wucherung). Einzelne Bakterien phagozytiert in den Kupfferschen Sternzellen. Lunge: Bakterien in den Lungenkapillaren, oft diplokokkenartig. Niere: Bakterien sehr reichlich in den Kapillarschlingen der Glomeruli. Spärlich im Epithel der Harnkanälchen. Milz: Massenhaft bipolare Stäbchen frei in den Gefäßen und Sinus sowie phagozytiert in den Endothelien. Myokard: Bipolare Stäbchen teils einzeln, teils in Häufchen in den Kapillaren.

3) 10. Jan. Eine Maus mit einem Stückchen Lunge in eine Hauttasche geimpft. 24. Jan. tot.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In der Leber kleine Abszesse, die massenhaft bipolare Stäbchen enthalten, an anderen Organen keine makroskopischen Veränderungen, insbesondere keine Hämorrhagien. Bakterien in Milzausstrichen.

Histologische Untersuchung: Leber, Leberzellbalken verschmälert, starke Wucherung und Abstoßung der Kapillarendothelien; in den Kapillaren reichlich polymorphkernige. Ausgedehnte herdförmige Nekrosen, umgeben von einer Zone zerfallender Kerne und Bakterien. Bipolare Stäbchen frei in Kapillaren und in Kupfferschen Sternzellen. Milz: Wucherung der Endothelien und Pulpazellen. Bakterien teils einzeln, teils in Häufchen in den Kapillarvenen, zuweilen auch phagozytierte in Endothelzellen. Lunge: Verstreut Alveolen mit Erythrozyten gefüllt. Spärlich Bakterien. Niere: Degeneration des Harnkanälchenepithels. Spärlich Bakterien in den Kapillaren der Glomeruli.

4) 17. Jan. 1 Meerschweinchen von 230 g intraperitoneal mit $^1/_4$ Oese geimpft. 18. Jan. gestorben. Allgemeine Hyperämie, klares Peritonealexsudat, in Lunge pneumonische Herde, Gehirn hyperämisch. Histologische Untersuchung: Leber: Abgestoßene Endothelien und polymorphkernige Leukozyten in den Kapillaren. Verstreut ganz kleine Infiltrate aus polymorphkernigen im Gewebe. Lunge: Kapillaren stark mit Blut gefüllt. Verstreut kleine Hämorrhagien in die Alveolen. In Milz, Leber, Lunge, Bauchsaft massenhaft Bipolare.

5) 30. Jan. 1 Taube mit $^1/_{10}$ Oese in den Brustmuskel geimpft, am 1. Febr. krank, aufgeplustert, frißt nicht bis 7. Febr. Trinkt nur. Seit 9. Febr. scheinbar wieder gesund, aber allmählich auftretende vorübergehende Lähmungserscheinungen der Beine.

Es handelt sich also um ein Bakterium, das morphologisch und kulturell den Erregern der hämorrhagischen Septikämie bzw. Pasteurellosen nahesteht. Friedländerscher Kapselbazillus, der ja auch im Gewebe als bipolarer erscheinen kann, und Pestbazillus scheiden nach dem kulturellen und morphologischen Verhalten aus. Der Bazillus zeichnet sich durch eine starke Pathogenität für Nagetiere aus, führt aber bei ihnen nicht zum Bilde der typischen septischen Hämorrhagie. Letzteres ist aber bei zahlreichen Bakterien dieser Gruppe bekannt. Im allgemeinen fügt er sich kulturell dieser Gruppe an; auch die Gasbildung in Traubenzucker kommt bei solchen Formen vor.

Die Einteilung dieser ganzen Gruppe ist ja eine recht fragliche und das Verhalten der Erreger der verschiedenen Tierseuchen ein recht schwankendes. Vor einiger Zeit hat Busson eine große Reihe von Stämmen verglichen und kommt auch zu dem Schlusse, daß die Pasteurella-Gruppe Lignières und diejenige der hämorrhagischen Septikämie Hüppes eine Reihe verschiedenartiger Bakterien enthalten.

Gewisse Beziehungen zur Paratyphus- und Coli-Gruppe bestehen auch, und vielleicht dürfte gerade unser Bakterium der ersteren näherstehen.

Von besonderem Interesse ist aber der Befund eines Bakteriums dieser Gruppe beim Menschen. Im allgemeinen galt bisher lange die Ansicht, daß die Krankheitserreger dieser Gruppe für Menschen nicht pathogen sei.

Ein von Fraenkel und Pielsticker 1909 isoliertes, dieser Gruppe nahestehendes Bacterium anthroposepticum ist beweglich, verflüssigt Gelatine, bildet kein Indol, und ist stark pathogen für Mäuse, Kaninchen und Sperlinge.

In den letzten Jahren sind seitens französischer Forscher eine Reihe durch Bakterien der Pasteurella-Gruppe hervorgerufener Infektionen der Menschen beschrieben worden.

So fand Bouffard bereits 1909 in tropischen Muskelabszessen in Französisch-Guinea eine Pasteurella, die Commes auf seine Anregung 1916 wieder daselbst aufsuchte und 1918 genauer beschrieb. Er fand sie am gleichen Orte in 4 Fällen und beschreibt sie als bipolar gefärbte, unbewegliche, gramnegative Stäbchen, die auf Agar üppig

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weißlich wachsen. Milch wird nicht koaguliert, Lackmusmolke bleibt blau, auf Kartoffeln schlechtes Wachstum. Subkutane und intraperitoneale Impfungen führte bei Kaninchen in 30—37 Std. zum Tode unter Eiterungen in Pleura und Peritoneum. Bouffard, der auch bei einem Fall von Chatenay 1913 im Eiter denselben Bazillus mikroskopisch festgestellt hat, konnte 1920 neue klinische und bakteriologische Beobachtungen anfügen. Er erhielt bei Kaninchen miliare Abszesse in Milz und Lunge, ferner Pleuritis, Cystitis, eiterige Conjunctivitis. Nach Commes sind die Fälle recht selten; er fand den Bazillus, den er Pasteurella Bouffardi nannte, 1916 einmal unter 3000, 1917 4mal unter 18000 und 1918 3mal unter 6000 im ganzen behandelter Krankheitsfälle.

Leger und Baury beschrieben in einem von Kernéis beobachteten Fall auf Dakar eine Pasteurella. Es handelte sich um eine tödlich verlaufene Lebereiterung, indem die ganze Leber in einen „eiterigen Schwamm" verwandelt zu sein schien. Es war ein bipolar sich färbender, gramnegativer Coccobacillus. Bouillon wurde gleichmäßig getrübt, auf Agar runde kleine Kolonien, im Zentrum klarer. In alten Kulturen Fäden von 6—8 μ. Auf Ascites-Agar üppiges Wachstum, keine Kapselbildung. Gelatine wurde nicht verflüssigt. Auf Kartoffeln üppiges crème-okerfarbenes Wachstum, vom 2. Tag an Nährboden schwärzlich. In Milchzuckerbouillon mit Natriumkarbonat starke Gasbildung; kein Indol. Milch langsam koaguliert. Für Mäuse, Ratten und Meerschweinchen sehr pathogen. Es handelte sich nicht um Bacillus Friedländer, lactis aërogenes oder Pest.

Besredka hat bei einem Fall, der typhusähnlich verlief, einen bipolaren, aber beweglichen, Zucker nicht vergärenden, Milch nicht koagulierenden gramnegativen Bazillus gefunden. Er fand ihn auch in 3 Fällen von Cerebrospinalmeningitis in der Cerebrospinalflüssigkeit. Für Meerschweinchen und Kaninchen war er pathogen.

Debré fand 1919 bei Pneumonie und eitriger Pleuritis durch Blutkultur einen pestähnlichen Bazillus, der schwach auf Agar, nicht auf Gelatine oder Milch wuchs, Indol bildete und für Nagetiere pathogen war. Ortscheit züchtete 1921 bei eitriger Pleuritis eine Pasteurella, die fakultativ anaërob war, Milch nicht koagulierte, langsam Indol bildete. Teissier, Gastinel, Reilly und Rivalier fanden 1922 bei tödlich verlaufender Pleuritis eine Pasteurella, die sehr virulent bei Versuchstieren war.

Bei unserem Fall begann die Erkrankung mit einer Gonorrhoe, der sich bald Gelenkaffektionen zugesellten, bis sich schließlich ein schweres Krankheitsbild entwickelte mit Pleuritis, Pericarditis und Nephritis.

Auch in mehreren der oben angeführten Fälle wurden Pleuritiden beobachtet. Daß Neigung zu Lokalisation auch bei tierischen Erkrankungen mit Pasteurellosen vorkommen, haben Murray und McNutt angegeben. Sie fanden bei Geflügel Gelenkschwellungen, verbunden mit Bewegungsstörungen, ferner bei einem Pferde Lahmheit und Gelenkschwellungen, ebenso bei einem Schaflamm aus einer Herde, in der bereits mehrere Tiere an hämorrhagischer Septikämie gefallen waren.

Immunisierungsversuche mit unserem Stamme — die bei dieser Gruppe in der Regel negativ verlaufen — haben wir nicht angestellt. Dagegen haben wir durch Vorbehandlung eines Kaninchens mit unserem Stamm — nach Abtötung bei 58° — ein denselben bis 1:1200 agglutinierendes Serum erhalten. Paratyphus-B, Bac. coli, Friedländer, bipolaris suis und Hühnercholera wurden davon nicht agglutiniert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zusammenfassung.

Bei einem nach gonorrhoischer Infektion an Gelenkschwellungen, Pleuritis, Pericarditis, Nephritis Erkrankten, der nach 6 Monaten starb, wurde bei der Obduktion ein Bazillus aus der Gruppe der Pasteurellosen bzw. hämorrhagischen Sektikämie isoliert, der für Nagetiere sehr virulent war. Der Fall schließt sich verschiedenen von französischer Seite beschriebenen menschlichen Erkrankungen mit Bakterien der Pasteurella-Gruppe an.

Literatur.

Besredka, Un coccobacille à espace clair pathogène pour l'homme. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 78. 1915. p. 288.) — Bouffard, G., Pyomyosite, maladie humaine à Pasteurella. (Bull. Soc. Path. Exot. T. 13. 1920. p. 398.) — Busson, Die Erreger der hämorrhagischen Septikämie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 101.) — Chatenay, Un cas de Pyohémie symétrique. (Ann. de hyg. et de méd. col. 1913. p. 200.) — Commes, La pyomyosite . . . (Bull. Soc. Path. Exot. T. 11. 1918. p. 822.) — Debré, Une bactérie vaisine des Pasteurellae pathogène par l'homme. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 82. 1919. p. 224.) — Fraenkel u. Pielsticker, Ueber ein bisher unbekanntes menschenpathogenes Bakterium usw. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 64. 1909. S. 145.) — Kernéis, Observations cliniques du malade qui a présenté l'infection à Pasteurella. (Bull. Soc. Path. Exot. T. 15. 1922. p. 495.) — Leger u. Baury, Septicémie, avec localisation hépatique suppurée, due à un germe a l'aspect morphologique de Pasteurella. (Ibid. T. 15. 1922. p. 491.) — Murray, Ch. u. McNutt, S. H., Tendency of organisms of the Pasteurella group to localize. (Journ. of Americ. Med. Assoc. Vol. 60. 1922. p. 580.) — Ortscheit, Compt. rend. Soc. Biol. T. 84. 1921. p. 941. — Teissier, Gastinel, Reilly, Rivalier, Contribution à l'étude des pasteurelloses à propos d'un cas de pasteurellose humaine. (Journ. Phys. et Path. Genève. T. 20. p. 212 u. 245. (Ref. im Bull. Pasteur. 21. 1923.)

Nachdruck verboten.

Beiträge zum Wesen der Wassermannschen Reaktion.

[Aus dem Hygienischen Institut (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer) und der Serodiagnostischen Abteilung der Dermatologischen Klinik der Universität Breslau (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Jadassohn).]

I. Mitteilung.

Von **Carl Prausnitz** und **Margarete Stern.**

Die Frage der Spaltbarkeit des syphilitischen Aggregates durch Kieselguradsorption. — Kritik der Wassermannschen „Bestätigungsreaktion". — Die Anwendung der Kieselgurmethode zur Wertbestimmung syphilitischer Sera.

Für die Erklärung kolloidchemischer Reaktionen spielt die Umkehrbarkeit eine wichtige Rolle. Die Erforschung dieser Frage ist besonders in der Immunitätslehre sehr fruchtbringend gewesen: es sei vor allem erinnert an die bekannten Versuche über die Sprengung neutralisierter Gemische von Schlangengift oder anderen Toxinen mit den entsprechenden Antitoxinen. Auch bei der Agglutination und Präzipitation scheint unter Umständen eine gewisse Umkehrbarkeit vorzukommen, ebenso bei den Flockungsreaktionen der Syphilis (Sachs und Sahlmann, H. Schmidt). Bei den Rezeptoren 3. Ordnung können nach den Untersuchungen von

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

R. Pfeiffer und Friedberger über die Choleravibriolyse im Meerschweinchenperitoneum ähnliche Verhältnisse vorliegen; denn am Schlusse der Vibriolyse findet man den bakteriolytischen Ambozeptor quantitativ im Peritonealexsudat wieder. Doch liegen hier insofern besondere Bedingungen vor, als sich der Prozeß im Tierkörper abspielt und zu völliger Auflösung der Bakterien und letzten Endes zur Zerstörung der Endotoxine führt. In anderen Fällen, wo die Ambozeptorwirkung weniger weitgehend ist, insbesondere bei Reagenzglasversuchen, kommt eine solche Umkehrbarkeit anscheinend nicht in Frage, so z. B. bei der Bindung der hämolytischen Ambozeptoren (Morgenroth).

Es war daher von großem Interesse, als 1920 v. Wassermann mitteilte, daß es ihm gelungen wäre, unter Verwendung geeigneter Kolloide das Molekül des „Wassermann-Aggregates“ in seine Komponenten zu zerlegen, das lipoide Antigen und die „Wassermann-Substanz“, d. h. den wirksamen Bestandteil des syphilitischen Serums. Durch diese bedeutsame Untersuchung schien also die Umkehrbarkeit der Wassermann-Reaktion erwiesen. — Wie aus der weiteren Veröffentlichung von v. Wassermann und H. Citron hervorzugehen scheint, ist es ihnen jedoch nur möglich gewesen, bei dieser Behandlung den Serumbestandteil zurückzugewinnen, nicht aber das Antigen. Von verschiedenen Verfahren hat sich ihnen der Kontakt mit einem frisch hergestellten dünnen Kieselgurhäutchen am besten bewährt. Das Verfahren beruht kurz gesagt auf folgendem Vorgehen:

Auf einer mit Fließpapier bedeckten nutschenartigen Vorrichtung wird durch Durchsaugen einer Aufschwemmung von Kieselgur in phys. NaCl-Lösung eine feine Kieselgurhaut niedergeschlagen und zum Schutze gegen Aufwirbelung mit einem Blättchen Fließpapier bedeckt. Von den im Wassermann-Hauptversuch verwendeten 6 ccm des Extrakt-Syphilisserum-Komplementgemisches werden zunächst 1,5 ccm auf das Filter gebracht, 5 Min. darauf stehen gelassen und abgesaugt. Nachdem durch diese Portion die im Filter befindliche NaCl-Lösung entfernt ist, bringt man weitere 2,5 ccm des Gemisches auf das Filter und saugt sie nach 5 Min. langem Kontakt ab. Endlich wird der Rest (2 ccm) des Gemisches auf das Filter gebracht und ebenfalls nach 5 Min. langem Kontakt abgesaugt. Die 2. und 3. Filtratportion werden durch Zusatz von Extrakt und Komplement bzw. Syphilisserum und Komplement, 1-stünd. Digestion bei 37° und nachherigen Zusatz sensibilisierter Hammelblutkörperchen auf das Vorhandensein freier Bestandteile von Syphilisserum bzw. Extrakt geprüft. Wegen der Einzelheiten der Versuchstechnik sei auf das Original verwiesen.

Auf diese Weise erhielten die Verff. aus den Gemischen von Extrakt mit Syphilisserum und Komplement stets Filtrate, die sich wie Syphilisserum verhielten (Komplementbindung bei Zusatz von Extrakt und Komplement, keine Bindung bei Zusatz von Komplement allein oder von Syphilisserum und Komplement). In auffallendem Widerspruch hierzu standen jedoch die Ergebnisse der Filtration von Gemischen aus Extrakt, Normalserum und Komplement. Hier hätte man erwarten sollen, daß das Filtrat weder auf Zusatz von Extrakt, noch von Syphilisserum Komplement binden würde; tatsächlich aber wirkte es häufig sowohl mit Extrakt wie mit Syphilisserum komplementbindend. Zur Erklärung wird von den Verff. angenommen, daß bei der Filtration eines positiven Hauptversuches das Antigen vom Filter zurückgehalten, adsorbiert wird; beim negativen Hauptversuch dagegen könne das Antigen das Filter passieren, auf Zusatz von Antigen und Komplement infolge Antigenüberschusses „Hemmungen“ verursachen, auf Zusatz von Syphilisserum und Komplement aber neues Wassermann-Aggregat bilden. Hier scheint ein Widerspruch vorzuliegen, wie schon von Bruck und von Sachs betont wurde.

Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Denn warum sollte im 1. Falle das durch Spaltung des Aggregats freigewordene Antigen stets vom Filter adsorbiert, im 2. Falle das freie Antigen in etwa der Hälfte der Fälle von ihm durchgelassen werden? War es nicht denkbar, daß überhaupt keine Spaltung des Aggregats im Filter erfolgt war, sondern daß im positiven Hauptversuch infolge bestimmter Dosierung regelmäßig ein Serumüberschuß bestand? Dann würde im positiven Versuche überhaupt kein freies Antigen vorhanden sein, der Serumüberschuß aber mußte in das Filtrat übergehen; unter dieser Annahme war beim negativen Serum das Erscheinen von Antigen im Filtrat durchaus verständlich. Die Entscheidung dieser Frage konnte gelingen, wenn man Gemische verschieden abgestufter Mengen von Extrakt und Syphilisserum nebst Komplement der gleichen Technik unterwarf. Gelang es dann, je nach den verwendeten Mengen im Filtrat entweder die Bestandteile des Extrakts oder des Syphilisserums nachzuweisen, so sprach das für unsere Annahme.

Unsere Versuchsanordnung schloß sich genau der v. Wassermannschen an, so daß sich ihre Beschreibung erübrigt. Als Antigen dienten 2 alkoholische Menschenherzextrakte mit Zusatz von 0,03 bzw. 0,05 Proz. Cholesterin. Die Gemische von Extrakt, inaktivem Serum und Komplement wurden nach 1-stünd. Digestion bei 37° filtriert; die Filtrate wurden durch Zusatz von Extrakt und Komplement, bzw. Syphilisserum und Komplement, 1-stünd. Bebrütung bei 37° und Zusatz sensibilisierter Hammelblutkörperchen auf das Vorhandensein der wirksamen Bestandteile des Syphilisserums oder Extrakts geprüft.

1. Vorversuche.

Das Kieselgur (feinstes Kg. von Kahlbaum), das mikroskopisch nur noch vereinzelte unversehrte Diatomeenpanzer aufwies, wurde geglüht, im Exsikkator abgekühlt und in kleinen Mengen im Achatmörser aufs feinste zerrieben. Von den geprüften Mengen — 0,01-1,5 g — erwies sich 0,05 g Kieselgur in 25 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt als optimal.

Um die Adsorptionswirkung des Filters kennen zu lernen, filtrierten wir zunächst jede Substanz (Extrakt, Syphilisserum und Komplement) für sich: hierbei zeigte es sich, daß das Komplement und das Syphilisserum vom Filter ziemlich gut hindurchgelassen werden, während das Extrakt zu einem erheblichen Teile zurückgehalten wird (Protokoll 1).

Protokoll 1.

a) Vergleich zwischen filtriertem und unfiltriertem Komplement.

1) Gemische von 0,25 ccm 5-proz. Hammelblut, 0,25 ccm fallender Ambozeptorverdünnungen, 0,25 ccm Komplement 1:10, aufgefüllt mit phys. NaCl-Lösung auf 1,25 ccm.

Ambozeptor	1:1200	1:1600	1:2000	1:3000	1:4000	1:9000
Hämolyse[1]) durch:						
Unfiltriertes Komplement	c	c	c	k	gk	+
Filtriertes „	c	c	ic	gk	f+	+

2) Gemische von 0,25 ccm 5-proz. Hammelblut, 0,25 ccm Ambozeptor (4-fach lösende Dosis), 0,2—0,05 ccm 10-proz. Komplement, aufgefüllt mit phys. NaCl-Lösung auf 1,25 ccm.

Komplementmengen:	0,2	0,15	0,1	0,05
Hämolyse durch unfiltriertes Komplement	c	c	kk	+
„ „ filtriertes „	c	fc	k	+

1) Bezeichnung der Hämolysegrade entsprechend der Nomenklatur der Wa.-R.: c = komplett, fc = fast komplett, ic = inkomplett, kk = kleine Kuppe, k = Kuppe, gk = große Kuppe, f+ fast positiv, + = positiv (keine Hämolyse).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

β) Vergleich zwischen filtriertem und unfiltriertem Extrakt und Syphilisserum.

Gemische von 0,25 ccm unfiltriertem oder filtriertem Extrakt, 0,25 ccm unfiltriertem oder filtriertem Syphilisserum und 0,25 ccm Komplement 1 : 10, im typischen Wassermann-Versuch untersucht. Fallende Extraktverdünnungen. Syphilisserum stets 1:5.

Extrakt-verdünnung	Unfiltrierter Extrakt und		Filtrierter Extrakt und	
	unfiltriertes Syphilisserum	filtriertes Syphilisserum	unfiltriertes Syphilisserum	filtriertes Syphilisserum
1:5	+	+	+	+
1:10	+	+	+	+
1:20	+	+	c	c
1:40	+	+	c	c
1:80	f+	f+	c	c
1:160	c	.	.	.
1:320	c	.	.	.
Kontrolle	c	c	c	c

Das Komplement und Syphilisserum verlieren durch Filtration nur wenig, während das Extrakt etwa $^1/_8$ verliert. Bei umgekehrter Auswertung mit konstanten Extrakt- und fallenden Syphilisserummengen ist ein geringerer, aber gleichsinniger Unterschied zwischen unfiltriertem und filtriertem Extrakt festzustellen.

Wenn unsere Annahme zutraf, daß bei den Versuchen v. Wassermanns und Citrons kein Aggregat gespalten wird, sondern nur die von vornherein vorhandenen Serumüberschüsse nachgewiesen werden, so war es hiernach verständlich, weshalb etwaige geringe Extraktüberschüsse dem Nachweis entgehen mußten, da sie vom Filter adsorbiert worden wären. Daher war es angezeigt, die Unterschiede in den verwendeten Konzentrationen von Extrakt und Syphilisserum zunächst nicht zu klein zu wählen, wenn wir deutliche Ausschläge nach der einen wie nach der anderen Seite erzielen wollten.

Aus der Citronschen Beschreibung war es uns nicht ganz klar, ob seine Untersuchungen nur mit der dritten Portion des Filtrates oder mit dem Gemisch der zweiten und dritten Portion gewonnen wurden. Wir haben daher in zahlreichen Versuchen zunächst die zweite und dritte Portion getrennt aufgefangen und jede für sich geprüft: Stets gaben die beiden Portionen gleichsinnige Reaktionen, wobei die dritte meist etwas stärker war als die zweite. Dies erklärt sich offenbar dadurch, daß die erste, fortgegossene Filtratportion nicht die ganze bei der Anfertigung der Filterhaut verwendete NaCl-Lösung entfernt hatte. Da der Fehler aber gering war, wurde später auf die Trennung der zweiten und dritten Portion verzichtet, was anscheinend der Citronschen Anordnung entspricht.

2. Filtration positiver Sera.

Bei diesen Versuchen wurde eine Reihe verschiedener Verdünnungen von Extrakt und Syphilisserum verwendet. Am besten bewährten sich in der Regel folgende Mengenverhältnisse:

Extrakt	1:5	+ Syphilisserum	1:4	+ Komplement	1:10
„	1:15	+ „	1:4	+ „	1:10
„	1:45	+ „	1:4	+ „	1:10
„	1:5	+ „	1:8	+ „	1:10
„	1:15	+ „	1:8	+ „	1:10
„	1:45	+ „	1:8	+ „	1:10

Doch gaben zuweilen andere Konzentrationen noch schärfere Ausschläge; z. B. mußten bei besonders stark positiven Seren zum Nachweis überschüssigen Extraktes die zum Gemisch verwendeten Serummengen von $^1/_4$ bzw. $^1/_8$ auf $^1/_8$ bzw. $^1/_{16}$ herabgesetzt werden; bei schwachen Seren mußte die größte Konzentration auf $^1/_3$ erhöht werden. Man muß eben für jedes Syphilisserum feststellen, wo die „neutrale Zone" liegt, d. h. das Mengenverhältnis, bei dem im Filtrat weder Extrakt- noch Serumüberschuß auftritt. Hierzu reicht in der Regel eine Reihe von 6 Filterversuchen aus, die bequem in etwa 2 Std. ausgeführt werden kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

v. Wassermann schreibt von seiner Reaktion, die er aus später zu erörternden Gründen als eine „Bestätigungsreaktion" bezeichnet, daß sie sehr subtil sei und nur in die Hände von zuverlässig Arbeitenden gelangen dürfe. Die Resultate sollten sofort nach der Lösung sämtlicher Kontrollen abgelesen werden. Daraus möchten wir schließen, daß v. Wassermann sehr oft bei seinen Filtraten in der Nähe der neutralen Zone und dicht vor der Zone des Umschlags in den Extraktüberschuß war. Auch wir haben in dieser Grenzgegend regelmäßig eine schnelle, starke, oft vollständige Nachlösung anfänglich positiver Reaktionen beobachtet. Bei quantitativ richtig eingestellten Mengen, die sich für jedes Serum ändern und nur empirisch festgestellt werden können, findet dagegen weder bei ausgesprochenem Extrakt- noch bei Serumüberschuß eine merkliche Nachlösung auch nach stundenlanger Beobachtung statt.

Um möglichst ausgeprägte Ergebnisse zu erzielen, haben wir in einem Teil der Versuche Parallelreihen mit der 2fach und der 4fach lösenden Ambozeptormenge angelegt. Außerdem erfolgte, was sich besonders gut bewährte, der Zusatz des Extraktes sowie des Syphilisserums zum Filtrat in je zwei Konzentrationen. Durch die jedesmalige Verwendung verschiedener Mengen von Extrakt und Syphilisserum gelang es meist, wenigstens eine Reihe mit möglichst vollständiger Komplementbindung zu erhalten, gleichviel ob die Sera mehr oder weniger stark positiv waren. Die Prüfung der Filtrate auf freie Extrakt- und Syphilisserumbestandteile geschah demnach, wie folgt:

	Prüfung auf überschüssigen Extrakt		Prüfung auf überschüssiges Syphilisserum	
Filtrat	0,25	0,25	0,25	0,25
Extrakt	0	0	0,25 **(1:5)**	0,25 **(1:10)**
Syph. Serum	0,25 **(1:5)**	0,25 **(1:10)**	0	0
Kompl. 1:10	0,25	0,25	0,25	0,25

Die weitere Behandlung erfolgte wie im Wassermann-Versuch; Ablesung nach 15, 30 und 45 Minuten.

Zum Nachweis des Extraktes im Filtrat wurden außer dem im ersten Teil des Versuchs verwendeten Serum stets auch andere, stark positive Syphilissera benutzt. Dies erwies sich als besonders notwendig, weil der Extraktnachweis im Filtrat Sera von starker Avidität erfordert (vgl. Abschnitt 4, Protokoll Nr. 5, Spalte 3 und 4). Zur Kontrolle wurde stets auch eine weitere Filtratprobe mit Normalserum angesetzt: hierbei trat niemals Komplementbindung ein.

Alle zur Filtration verwendeten Gemische wurden gleichzeitig auch im typischen Wassermann-Versuch geprüft; so wurde eine Kontrolle darüber erhalten, ob die im ersten Teil des Versuchs benutzten Serum- und Extraktmengen zur Bindung des Komplements ausgereicht hatten. In der Tat ergeben bei stark positiven Seren auch die Gemische von $^1/_{16}$ Serum und $^1/_{45}$ Extrakt eine positive Wassermann-Reaktion.

Protokoll Nr. 2.

Gemisch von je 2,5 ccm Extrakt, Syphilisserum 63, Komplement 1:10, 1 Std. 37°, dann filtriert. Zu je 0,25 ccm des Filtrats Zusatz von 0,25 ccm. Komplement 1:10 und (Spalte 3) 0,25 Syphilisserum 63 1:10 oder (Spalte 4) Extr. 1:10. Die unfiltrierten Gemische wurden gleichzeitig im typischen Wassermann-Versuch geprüft (Spalte 5).

1	2	3	4	5
Gemisch von		Filtrat versetzt mit		Unfiltriert. Gemisch im typisch. Wassermann-Versuch
Extrakt	Syph.-Serum 63	Syph.-Serum 63	Extrakt	
1:5	1:4	+	c	+
1:15	1:4	c	+	+
1:45	1:4	c	+	+
1:5	1:8	+	c	+
1:15	1:8	c	c	+
1:45	1:8	c	fc	+

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach diesen Vorbemerkungen sei zunächst ein typisches Protokoll wiedergegeben, das die mit großer Regelmäßigkeit erhobenen Befunde zeigt, insbesondere den Umschlag vom Extrakt- zum Serumüberschuß, zurück zum Extraktüberschuß und nochmals eine Andeutung von Serumüberschuß. (Prot. Nr. 2.)

Wir haben 23 Syphilitiker im Verlauf der Behandlung nach diesem Verfahren mehrmals untersucht (75 Serumproben). Von der Zuverlässigkeit der Methode konnten wir uns durch mehrfache Wiederholung der Untersuchung bei gleichen Proben überzeugen.

Als optimale Verdünnungen für die meisten Sera ergaben sich die folgenden Werte:

	Extrakt	Syph.-Serum
Zur Erzielung von Extraktüberschuß	1:5	1:8
„ „ „ Serumüberschuß	1:15	1:4
	1:45	1:4
„ „ der neutralen Zone	1:15	1:8

Naturgemäß ändern sich die angegebenen Mengenverhältnisse entsprechend für Sera, die abnorm stark, bzw. abnorm schwach sind.

Es ist durchaus begreiflich, daß das Filtrat der stärkst konzentrierten Gemische von Extrakt und Syphilisserum häufig sowohl auf Zusatz von Extrakt wie von Syphilisserum Komplement bindet. Hier handelt es sich eben um Hemmungen infolge Ueberdosierung, wie sie ja auch bei der üblichen Wassermann-Reaktion wohlbekannt sind. Wodurch in unseren Versuchen diese Hemmungen bedingt waren, wird im Abschnitt 7 besprochen werden.

Es ergibt sich also aus diesen Versuchsreihen, daß man es durch entsprechende Dosierung der Extrakt- und Syphilisserummengen vor der Filtration in der Hand hat, im Filtrat nach Belieben entweder einen Serum- oder einen Extraktüberschuß oder Neutralität zu erzielen. Damit hören unseres Erachtens die Versuche v. Wassermanns und Citrons auf, für eine Spaltung des Aggregates im Filter beweisend zu sein. Daß v. Wassermann und Citron bei ihren Versuchen immer nur Serum- und niemals Extraktüberschüsse bekommen haben, und auch niemals infolge quantitativer Bindung der Extrakt- und Serummengen im Filtrat auf die neutrale Zone gestoßen sind, können wir uns durch folgende Momente erklären: In der Veröffentlichung über die Technik wird gesagt, daß für die Filtrate der Inhalt zweier Röhrchen eines Hauptversuchs verwendet wurde. Die Verfasser haben also vermutlich nur mit den allgemein üblichen Mengen von $^1/_5$ Extrakt und $^1/_5$ Syphilisserum gearbeitet, sind aber wohl nicht mit den Serumdosen hinunter und den Extraktdosen hinaufgegangen. So konnten ihnen die quantitativen Verschiebungen entgehen. Dazu kommt, daß die Dahlemer Extrakte im allgemeinen etwas schwächer sind als die unsrigen, wodurch ein Serumüberschuß in der Versuchsanordnung der Verfasser begünstigt wurde. Endlich scheinen sie zu ihren Versuchen nur stark positive Sera herangezogen zu haben, bei denen ein Serumüberschuß ohnehin zu erwarten war. Im allgemeinen hätte man aus unseren sämtlichen Versuchen eine Bestätigung der v. Wassermannschen herauslesen können, wenn man aus unseren 6 Filtrationen immer nur eine einzige Reihe (gewöhnlich die dritte mit $^1/_4$ Serum und $^1/_{45}$ Extrakt) berücksichtigt hätte: diese ergibt in der Tat die Wassermannsche Formel

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

„++++, —, —". Zu fundamental verschiedenen Ergebnissen führt dagegen, wie gesagt, die quantitative Auswertung.

Noch zwingender geht die Richtigkeit unserer Auffassung aus folgender Ueberlegung hervor: Falls durch das Kieselgur eine Spaltung des Aggregats im Sinne v. Wassermanns erfolgt wäre, so mußte in allen drei Proben mit verschiedenen Extrakt- aber gleichen Serummengen im Filtrat die gleiche Serummenge wiedergewonnen werden; beruhte dagegen die Funktion des Kieselgurfilters nur darin, die großen Teilchen des Aggregats zu adsorbieren, während die von vornherein überschüssigen Serum- bzw. Extraktmengen durchgelassen wurden, so mußten die Filtrate um so reicher an Syphilisserum sein, je geringer die zum Gemisch vor der Filtration verwendeten Extraktmengen gewesen waren. Das letztere ist der Fall, wie Protokoll Nr. 3 zeigt.

Protokoll Nr. 3.

Technik wie bei Protokoll Nr. 2.

1.	2.	3.	4.
Gemisch von		Filtrat versetzt mit	
Extrakt	Syph.-Serum 54	Syph.-Serum 54	Extrakt
1:5	1:4	k	c
1:15	1:4	c	gk
1:45	1:4	c	+

Mit Rücksicht auf die erwähnten Unterschiede in der Wirksamkeit der Breslauer und Dahlemer Extrakte wäre es immerhin möglich gewesen, hierin eine Erklärung unserer abweichenden Ergebnisse zu suchen. Dann war es denkbar, wenn auch wenig wahrscheinlich, daß hier grundlegende Unterschiede in den Bindungsverhältnissen zwischen Extrakt und Syphilisserum vorlägen, oder daß die schwächeren Dahlemer Extrakte intensiver und konstanter vom Filter festgehalten würden als die wirksameren Breslauer Extrakte. Indessen ergaben Kontrollversuche mit 2 Dahlemer und 2 Breslauer Extrakten prinzipiell übereinstimmende Resultate, woraus unsere Auffassung der Vorgänge eine weitere Stütze erhält.

3. Filtration von Normalseren.

Die vorstehenden Ergebnisse mit positiven Seren werden noch beweiskräftiger durch die entsprechenden Kontrollversuche mit 13 Normalseren. Wurden die unter Anwendung der beschriebenen Technik aus Gemischen von Extrakt, Normalserum und Komplement gewonnenen Filtrate mit Extrakt und Komplement versetzt, so erfolgte niemals Komplementbindung; dagegen gab das Filtrat stets bei Zusatz geeigneter Dosen von Syphilisserum und Komplement Bindung, während natürlich keine Komplementbindung eintrat, wenn an Stelle des positiven Serums ein Normalserum dem Filtrat zugefügt wurde. Das Filtrat enthielt also niemals wirksame Serum-, stets aber Extraktbestandteile. Zum Nachweis des Extrakts im Filtrat eignet sich freilich, wie erwähnt, nicht jedes Syphilisserum, sondern man muß stark positive Sera (mit hoher Avidität!) verwenden, um die durch Filteradsorption herabgesetzen Extraktmengen im Filtrat aufzufinden. So erklären sich vielleicht die sonst schwer verständlichen Beobachtungen v. Wassermanns und Citrons, bei deren Normalserumversuchen nur in etwa $^1/_2$ der Fälle Antigen im Filtrat festgestellt wurde. (Protokoll Nr. 4.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Protokoll Nr. 4.
Technik wie bei Protokoll Nr. 2.

1.	2.	3.	4.	5.	6.
Gemisch von		Filtrat versetzt mit			Unfiltrierte Gemische im typisch. Wa.-Vers.
Extrakt	Normalserum 87	Normalserum 87	Syphilisserum 58	Extrakt	
1:5	1:4	c	+	c	c
1:15	1:4	c	fc	c	c
1:45	1:4	c	c	c	c
1:5	1:8	c	+	c	c
1:15	1:8	c	c	c	c
1:45	1:8	c	c	c	c

4. Besondere Beobachtungen bei der Filtration schwach positiver Sera. — Versuche über den Durchtritt von Komplement in das Filtrat.

Wie bereits erwähnt wurde, konnte bei einzelnen Wassermann-positiven Seren die Anwesenheit freien Extrakts im Filtrat nicht nachgewiesen werden bei Zusatz des gleichen Serums mit Komplement, sondern nur durch stark positive Sera; dann aber gelingt der Extraktnachweis stets in den Filtraten der Gemische, die von vornherein einen Extraktüberschuß gehabt hatten (vgl. Protokoll Nr. 5). Aehnlich ver-

Protokoll Nr. 5.

1.	2.	3.	4.	5.	6.
Gemisch von		Filtrat versetzt mit			Unfiltrierte Gemische im typisch. Wa.-Vers.
Extrakt	schwachem Syph.-Serum 50	schwachem Syph.-Serum 50	stark posit. Serum 44	Extrakt	
1:5	1:4	ic	f+	c	+
1:15	1:4	c	c	c	k
1:45	1:4	c	c	c	fc
1:5	1:8	ic	+	c	+
1:15	1:8	c	c	c	kk
1:45	1:8	c	c	c	c

hielten sich auch einige andere, ursprünglich stark positive Sera, die im weiteren Verlauf der antisyphilitischen Behandlung eine Abnahme des Extraktbindungsvermögens aufwiesen (vgl. Abschnitt 8).

Noch deutlicher werden die Verhältnisse, wenn man die Filtrate auf Komplementgehalt prüft. Daß freies Komplement vom Filter kaum zürückgehalten wird, ergeben die Versuche des Abschnitts 1.

Zum Nachweis des Komplements im Filtrat bedurfte es allerdings einer etwas feineren Methodik als sie beim typischen Wassermann-Versuch mit 5-proz. Hammelblut und der 2—3-fach lösenden Ambozeptormenge verwendet wird. Da das Komplement, das zwar an sich das Kieselgurfilter ohne nennenswerten Verlust passiert, etwa 4 Std., und davon 2 Std. bei 37° gehalten wird, muß es naturgemäß einen Teil seiner Wirksamkeit verloren haben. Bei Verwendung von leichteren Blutlösungsbedingungen, wie sie von Stern in den für die „aktive Methode" vorgeschriebenen gefunden worden sind (2 Proz. Blut, 8—10-fach lösende Ambozeptormenge), gelingt es regelmäßig, eine einwandfreie Lösung da hervorzurufen, wo Komplement in das Filtrat gelangt war.

Stimmte unsere oben begründete Auffassung, daß das Aggregat im Filter nicht gesprengt wird, so durfte nie Komplement im Filtrat nachweisbar sein, wenn der Komplex von Extrakt und Syphilisserum ab-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gesättigt und das zugesetzte Komplement demgemäß verbraucht war. Das war der Fall. — Hingegen mußte insbesondere bei nur schwach positiven Syphilisseren die Bindung unvollkommen, daher ein Teil des Komplements unverbraucht bleiben; dieser Teil des Komplements mußte unter Umständen im Filtrat nachweisbar sein. Auch das war der Fall. — Endlich war beim Normalserum zu erwarten, daß bei allen Filtraten das Komplement in toto oder annähernd in toto nachzuweisen wäre. Auch dies war der Fall (vgl. Protokoll Nr. 6, Versuch a, b und c, Spalte 6).

Protokoll Nr. 6 (abgekürzt wegen Raumersparnis).

a) Stark positives Serum.

1.	2.	3.	5.	6.	7.
Gemisch von		Filtrat versetzt mit		Sensibilisierte 2-proz. Hammelblutkörperchen [1])	Unfiltrierte Gemische im typ. Wa.-Vers.
Extrakt	Syph.-Ser. 126	Syph.-Ser. 126	Extrakt		
1:45	1:4	c	+	+	+
1:5	1:8	+	c	+	+
1:15	1:8	c	k	+	+

b) Schwach positives Serum.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Gemische von		Filtrat versetzt mit			Sensibilisierte 2-proz. Hammelblutkörperchen [1])	Unfiltrierte Gemische im typ. Wa.-Vers.
Extr.	Syph.-Serum 108	Syph.-Serum 108	stark positivem syph. Serum 103	Extr.		
1:5	1:4	c	+	c	+	f +
1:15	1:4	c	c	c	gk	fc
1:45	1:4	c	c	c	c	c

c) Normalserum.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Gemische von		Filtrat versetzt mit			Sensibilisierte 2-proz. Hammelblutkörperchen [1])	Unfiltrierte Gemische im typ. Wa.-Vers.
Extr.	Norm.-Ser. 107	Norm.-Ser. 107	stark positiv syph. Serum 103	Extr.		
1:5	1:4	c	+	c	c	c
1:15	1:4	c	c	c	c	c
1:45	1:4	c	c	c	c	c

Wir haben also in der Prüfung der Filtrate auf freies Komplement eine weitere Möglichkeit der Differenzierung zwischen stark positiven, schwach positiven und normalen Seren.

Auf Grund seiner Anschauung, daß eine Spaltung des „Wassermann-Aggregates“ im Filter möglich wäre, hatte v. Wassermann vorgeschlagen, dies Verfahren als „Bestätigungsreaktion“ zu verwenden. Es sollte nach ihm möglich sein, in zweifelhaften Fällen das Aggregat zu spalten und mit der daraus wiedergewonnenen „Wassermann-Substanz“ erneut entweder die Wassermann-Reaktion oder eine Flockungsreaktion auszuführen. Nach unseren Ergebnissen ist eine

1) Zum Nachweis von Komplement, welches das Filter passiert hatte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

solche Bestätigungsreaktion oder Sicherung nicht möglich: 1) Bei positiven Seren ist es denkbar und nach unseren Erfahrungen auch theoretisch begründet, daß v. Wassermann beim Filtrieren eines mit positivem Serum angesetzten Gemisches, das er anscheinend nur in einer Konzentration von Extrakt und von Serum vornimmt, gerade die neutrale Zone treffen könnte, in der die wirksamen Bestandteile des Extraktes und des Syphilisserums quantitativ gebunden sind; dann müßte das aus positivem Serum gewonnene Filtrat im neu angesetzten Versuch negativ reagieren. In der Tat haben wir bei unseren Austitrationen mit 6 Konzentrationen in den meisten Fällen neben Extrakt- und Serumüberschuß auch das Stadium der neutralen Zone bekommen. 2) Andererseits bedeutet bei negativen Seren die Bestätigungsreaktion nicht mehr als es eine Wiederholung der betreffenden Wassermann-Reaktion tun würde, die bedeutend einfacher ausgeführt werden kann, als die Filtration. Die zuverlässigste Sicherung der Wassermann-Reaktion ist nicht die Anstellung der „Bestätigungsreaktion", sondern die gleichzeitige Anwendung mehrerer Extrakte, sowie die Kontrolle durch eine der Flockungsreaktionen.

5. Filtration durch verschieden starke Kieselgurfilter.

Gegenüber unserer Erklärung der in den vorigen Abschnitten beschriebenen Befunde hätte vielleicht noch der Einwand erhoben werden können:

Wir hätten bei erheblichen Extraktüberschüssen unserer Gemische nur deshalb Extrakt im Filtrat gefunden, weil unsere Filter zu durchlässig waren; eine Spaltung des Aggregates wäre zwar erfolgt, der Serumnachweis im Filtrat aber deshalb mißlungen, weil eben gleichzeitig Extrakt in das Filtrat gelangt wäre. Hätten wir dagegen ein dichteres Filter benutzt, so wäre kein Extrakt durchfiltriert, und der Nachweis einer im Filter abgespaltenen Serummenge wäre geglückt. Um auch diesen Einwand zu entkräften, wurden in Parallelreihen abgestufte Extrakt-Syphilisserumgemische durch drei verschiedene Stärken von Kieselgurhäutchen filtriert (vgl. Protokoll Nr. 7).

Protokoll 7.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Gemische von		Filtriert durch Kieselgur	Filtrate versetzt mit				
Extrakt	Syphilisserum 136		Syphilisserum 136	Extrakt	Komplement		
					1:10	1:20	1:30
1:15	1:8	0,025	+	k	c	gk	+
1:5	1:16	0,025	+	c	c	c	gk
1:15	1:8	0,05	gk	c	c	c	gk
1:5	1:16	0,05	gk	c	c	c	k
1:15	1:8	0,1	c	c	c	c	ic
1:5	1:16	0,1	c	c	c	c	c

Im allgemeinen wurden gleichsinnige Resultate erzielt. Das Filtrat der schwächsten Filter (0,025 g Kieselgur) gab häufig Komplementbindung sowohl auf Zusatz von Extrakt wie von Syphilisserum; diese Störung war im allgemeinen geringer bei der von uns regelmäßig verwendeten Kieselgurmenge von 0,05 g; sie fehlte vollkommen bei Verwendung von 0,1 g Kieselgur. Im ganzen waren bei 0,1 g die Ausschläge meist weniger deutlich als bei 0,05 g, was sich durch stärkere Adsorptionsverluste in den dichteren Filtern ohne weiteres erklärt. Es bestätigt sich insofern die Angabe v. Wassermanns und Citrons, daß zwischen der Adsorptionswirkung und der Kieselgurmenge quantitative Beziehungen bestehen. Diese Versuche bestätigen ferner, daß die von uns in der Regel verwendete Kieselgurmenge von 0,05 g am besten geeignet ist; geringere

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mengen geben störende Hemmungen, während größere Kieselgurmengen infolge zu starker Adsorption weniger charakteristische Reaktionen zeigen. Der erdachte Einwand gegen unsere Versuchstechnik ist daher ebenfalls hinfällig.

6. Schüttelversuche mit Kieselgur.

Die bisher geschilderten Versuche haben gezeigt, daß bei der Filtration nach v. Wassermann und Citron das Aggregat von Extrakt, Syphilisserum und Komplement durch die Kieselgurhaut zurückgehalten, aber nicht gesprengt wird, während etwaige Ueberschüsse von Extrakt- oder Syphilisserumbestandteilen das Filter passieren. Da es sich also um eine Adsorption handelt, haben wir versucht, durch eine einfachere Methode zum gleichen Ergebnis zu gelangen.

Zu diesem Zwecke wurden in Erlenmeyer-Kölbchen von 30 ccm Fassungsvermögen je 2 ccm der entsprechend hergestellten und 1 Std. bei 37° gehaltenen Gemische unter Zusatz von 0,04 g Kieselgur langsam geschüttelt (etwa 40 Stöße des Schüttelapparates in der Minute); dann wurde der Kieselgur abzentrifugiert und die klare überstehende Flüssigkeit in der üblichen Weise auf Extrakt- oder Syphilisserumbestandteile untersucht. Wir erhielten gut übereinstimmende Resultate, gleichviel ob 10, 20 oder 30 Min. geschüttelt wurde. Grundsätzlich entsprachen die Ergebnisse der Schüttelversuche den durch Filtration gewonnenen (vgl. Protokoll Nr. 8).

Protokoll Nr. 8.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	
Gemische von		Filtrate versetzt mit			Zentrifugate versetzt mit (Schüttelversuch)			Unfiltrierte Gemische im typischen Wa.-Versuch
Extrakt	Syphilisserum 104	Syphilisserum 104	Syphilisserum 103	Extrakt	Syphilisserum 104	Syphilisserum 103	Extrakt	
1:5	1:4	fc	+	ic	gk	+	gk	+
1:15	1:4	c	kk	k	c	+	k	k k
1:45	1:4	c	c	k	c	c	k	c
1:5	1:8	ic	+	c	fc	+	c	+
1:15	1:8	c	fc	c	c	kk	c	c
1:45	1:8	c	c	c	c	c	c	c

Indessen hatten wir doch den Eindruck, daß die Filtration im allgemeinen zuverlässiger arbeitet, während beim Schütteln gelegentlich Versager vorkommen. Die Adsorption verläuft hier gröber, was auch daraus erhellt, daß es uns in den Schüttelversuchen selbst mit den schwach positiven und Normalseren nicht gelang, im Filtrat freies Komplement nachzuweisen. Wir geben daher der sehr schön ausgearbeiteten Filtrationstechnik nach v. Wassermann und Citron unbedingt den Vorzug.

7. Erklärung der Fälle, wo das Filtrat sowohl mit Extrakt wie mit Syphilisserum Komplement bindet.

Auf Seite 251 wurde erwähnt, daß bei den Gemischen aus den stärksten Konzentrationen von Extrakt und Syphilisserum die Filtrate öfters sowohl auf Zusatz von Extrakt wie von Syphilisserum Komplementbindung zeigen. Die Erklärung dieser Befunde ist auf 3 Weisen denkbar:

a) Es könnte sich um eine unspezifische „Hemmung" handeln, wie wir sie aus dem üblichen Wassermann-Versuch kennen, bedingt durch die Bindung von Komplement durch übergroße Mengen von Extrakt allein oder von Serum allein. Gelangten von der einen oder der anderen Komponente zu große Quantitäten in das Filtrat, so

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

konnte auf Zusatz der gleichen Substanz zum Filtrat eine Summation stattfinden, die zur Bindung des Komplements ausreicht.

b) Ferner war es denkbar, daß das Gemisch vor der Filtration zu wenig Komplement enthielt: dann würde sich nur ein Teil des Extrakts und Syphilisserums mit dem vorhandenen Komplement vereinigen und die großen Teilchen des Aggregates bilden, die vom Filter zurückgehalten werden oder, selbst wenn sie hindurchgelangen sollten, mit neu zugesetztem Komplement nicht mehr in Reaktion treten könnten; daneben würde ein komplementfreier Komplex von Extrakt- und Syphilisserumbestandteilen entstehen, entsprechend der Vorstufe der Sachs-Georgischen Flockungsreaktion, der als feiner disperses Gebilde das Filter eher durchdringen könnte. Dieser Komplex würde naturgemäß das zugesetzte Komplement binden.

c) Endlich war es auch möglich, daß die Bindung von Extrakt und Syphilisserum bei Mangel an Komplement überhaupt nicht restlos verläuft, sondern daß daneben freie Extrakt- und Serumbestandteile im Gemisch bleiben und in das Filtrat gelangen. Diese könnten dann auch dort zunächst ungebunden bleiben und bei Zusatz von Komplement und Extrakt oder von Komplement und Syphilisserum das Komplement binden.

Wenn die Annahme a) falsch war, und entweder b) oder c) zutraf, so mußte das Filtrat auch ohne Zusatz von Extrakt oder Syphilisserum Komplement binden. Dies war der Fall. Die Entscheidung zwischen den Möglichkeiten b) und c) ist zunächst nicht zu treffen; sie erscheint auch deswegen weniger wesentlich, da wir durch die Versuche anderer Forscher wissen, daß die Flockungsreaktionen reversibel sind, und wir um so mehr Grund zur Annahme haben, daß die ersten Stadien der komplementlosen Bindung von Extrakt und Syphilisserum wenigstens teilweise umkehrbar sind. Weitere Versuche nach dieser Richtung, insbesondere mit der Prüfung der Filtrate nach der Sachs-Georgi-Methode sind im Gange und haben die oben wiedergegebenen Resultate bisher durchaus bestätigt. Wir hoffen, darauf noch zurückzukommen.

8. Die Filtermethode zur Wertbestimmung Wassermann-positiver Sera.

Schon lange hat man die Mängel der quantitativen Auswertung der Wassermannschen Reaktion störend empfunden. Die schöne Filtrationsmethode v. Wassermanns und Citrons schien uns geeignet, hier eine Ergänzung zu geben; hatten doch die in den Abschnitten 2 und 4, Prot. 6 geschilderten Befunde gezeigt, daß verschiedene Sera, die im typischen Wassermann-Versuch unterschiedslos positiv reagierten, bei der Filtration erhebliche quantitative Unterschiede aufweisen. Daher wurde bei einer Reihe von Patienten das Serum vom ersten Beginn der Behandlung an nach beiden Methoden fortlaufend untersucht. Hierbei ergab sich folgendes:

Auf der Höhe der Erkrankung zeigen die Sera sowohl nach der Wassermann-Reaktion wie nach der Filtermethode gleichlaufende Resultate (Typ A, vgl. Protokoll Nr. 9, Sera 1 und 2). Im Laufe der Behandlung bleibt die Wa.-R. zunächst unverändert positiv, während unsere Methode bereits ein deutliches Absinken in der Bindungsfähigkeit des Serums für Extrakt aufweist (Typ B, Protokoll Nr. 9, Serum 3). Auch im weiteren Verlaufe kann die Wa.-R. zunächst positiv bleiben; bei der Auswertung nach unserer Methode steigt aber die zur Extraktneutralisierung notwendige Serummenge immer mehr an, bis es schließlich überhaupt nicht mehr gelingt, eine neutrale Zone selbst bei den höchst möglichen Serummengen (Ser. 1:3) zu erzielen; man kann von da ab nur noch Extraktüberschuß nachweisen (Typ C). In diesem Stadium kann also das Serum nach unserer Methode sich bereits wie ein Normalserum verhalten, während es nach Wassermann positiv ist (Protokoll

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Protokoll

(Patient Pa. in verschiedenen Stadien

Infektion 13. Aug. 1922. Aufnahme wegen Lues I und II. Beginn

Gemisch von		1) Serum vom 15. Okt.			2) Serum vom 28. Okt.			3) Serum vom 4. Nov.		
		Zusatz von			Zusatz von			Zusatz von		
Extrakt	Syph.-Ser.Pa.	Syphilisserum Pa.	Extrakt	Wa.-R.	Syphilisserum Pa.	Extrakt	Wa.-R.	Syphilisserum Pa.	Extrakt	Wa.-R.
1:5	1:3	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1:5	1:4	.	.	.	.	.	.	+	gk	+
1:15	1:4	.	.	.	.	.	.	c	k	+
1:45	1:4	.	.	.	.	.	.	c	+	fc
1:5	1:8	+	kk	+	+	ic	+	+	c	+
1:15	1:8	c	k	+	fc	c	+	c	c	+
1:45	1:8	c	k	+	c	k	+	c	c	c
1:5	1:16	+	c	+	+	c	+	.	.	.
1:15	1:16	c	c	+	k	c	+	.	.	.
1:45	1:16	c	c	k	c	c	c	.	.	.

Anmerkung: Die neutrale Zone im Filterversuch ist durch **Fettdruck** ge

1) Vom 18. Nov. ab war Serum Pa. schon zu schwach geworden, um Extrakt litisches Serum ersetzt werden.

Nr. 9, Serum 4). Erst später klingt dann auch die Wa.-Reaktion ab (Protokoll Nr. 9, Serum 6).

Am deutlichsten wird der Verlauf dieses Vorganges, wenn man im Filterversuch das bei solchen Seren erfolgende Auftreten der neutralen Zone verfolgt (vgl. nachstehende Tabelle):

	Datum der Blutentnahme	Neutrale Zone im Filtrat des Gemisches von		Zur Neutralisation erforderliches Verhältnis zwischen Syphilis-Serum und Extrakt
		Extrakt	Syphilisserum	
1)	15. Okt. 1922	1:15	1:16	0,9
2)	28. „ „	1:45	1:16	2,7
3)	4. Nov. „	1:15	1:8	1,9
4)	18. „ „	1:45	1:4	11,2
5)	2. Dez. „	1:45	1:4	11,3
6)	19. „ „	1:45	1:4	11,2

Die zur Neutralisierung des Extrakts notwendige Syphilisserummenge steigt demnach im Verlaufe der Behandlung auf etwa das 11-fache des Anfangswertes.

Bei diesem Verfahren, das bisher bei 8 Syphilitikern geprüft wurde, zeigt also die Wassermann-Reaktion noch längere Zeit hindurch nur das Fortbestehen des krankhaften Vorganges an, während unsere Reaktion bereits die Neigung zur Besserung deutlich erkennen läßt. Unsere Reaktion erscheint also besonders da angezeigt, wo man bei hartnäckig positiv bleibender Wassermann-Reaktion feststellen will, ob die bei der Heilung der Syphilis erfolgende, serologisch nachweisbare Umstimmung des Körpers in Gang kommt.

Unserer bewährten Mitarbeiterin, Frl. Edith Firle, danken wir herzlich für ihre gewissenhafte und verständnisvolle Mitarbeit.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nr. 9.
der antisyphilitischen Behandlung.)
der Behandlung 12. Okt. 1922 (Neosalvarsan und Bismogenol).

4) Serum vom 18. Nov.			5) Serum vom 2. Dez.			6) Serum vom 19. Dez.		
Zusatz von			Zusatz von			Zusatz von		
Syphilis-serum[1])	Extrakt	Wa.-R.	Syphilis-serum[1])	Extrakt	Wa.-R.	Syphilis-serum[1])	Extrakt	Wa.-R.
.	.	.	.	.	.	+	c	c
+	fc	+	+	c	c	+	c	c
+	c	+	k	c	k	+	c	c
c	c	c	c	c	kk	c	c	c
+	c	+	+	c	c	+	c	c
+	c	gk	c	c	c	ic	c	c
c	c	c	c	c	c	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.

kennzeichnet.
im Filtrat nachzuweisen. Es mußte daher durch ein anderes, stark positives syphi-

Zusammenfassung.

1) Filtriert man Gemische von Extrakt, Syphilisserum und Komplement nach 1-stünd. Digestion bei 37° durch eine dünne Kieselgurschicht, so gehen etwaige Ueberschüsse von Extrakt oder Syphilisserum in das Filtrat über und können durch Zusatz von Syphilisserum und Komplement bzw. Extrakt und Komplement nachgewiesen werden.

Durch Verwendung entsprechender Konzentrationen des Extrakts und Syphilisserums in den zu filtrierenden Gemischen hat man es in der Hand, entweder einen Ueberschuß von Extrakt oder von Syphilisserum oder eine quantitative Bindung der beiden zu erzielen; je nachdem findet man dann auch im Filtrat entweder Ueberschüsse der einen oder anderen Komponente oder die „neutrale Zone".

v. Wassermanns und Citrons Auffassung, daß das Aggregat (Extrakt-Syphilisserum-Komplement) im Kieselgurfilter gespalten und das freiwerdende Extrakt dort adsorbiert, die „Antikörper" dagegen vom Filter durchgelassen würden, konnte hiernach von uns nicht bestätigt werden.

Wäre ihre Annahme richtig, so müßten auch verschiedene Gemische von gleichen Serum- aber abnehmenden Extraktkonzentrationen sämtlich Filtrate von gleicher Serumkonzentration ergeben. — Das Gegenteil ist der Fall.

2) Werden nach der gleichen Technik Gemische von Extrakt, Normalserum und Komplement filtriert, so geht regelmäßig Extrakt in das Filtrat über.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) Fände eine Spaltung des Aggregats im Filter statt, so müßte auch Komplement frei werden und in das Filtrat gelangen. Dies ist bei stark positiven Syphilisseren jedoch nie, bei schwach positiven Seren nur in gewissen Konzentrationen, bei Normalseren immer und in allen Konzentrationen der Fall.

4) Ausgehend von seiner Auffassung der Vorgänge im Filter hat v. Wassermann das Filtrationsverfahren als „Bestätigungsreaktion" bei Fällen empfohlen, wo die übliche Wassermann-Reaktion zweifelhafte Resultate ergeben hat. Nach unseren Untersuchungen enthält indessen bei gewissen Konzentrationsverhältnissen von Extrakt und Syphilisserum das Filtrat keine freien Syphilisserumbestandteile: das Filtrat solcher Gemische ist also vom Filtrat eines Normalserum-Extraktgemisches nicht zu unterscheiden.

Die sogenannte „Bestätigungsreaktion" stellt demnach keine Sicherung dar.

5) Bei einfachem Ausschütteln der Gemische mit Kieselgur und nachfolgendem Zentrifugieren erhält man in der Lösung entsprechende Adsorptionsvorgänge wie bei der Filtration.

6) Unter geeigneten Bedingungen gehen in ein und dasselbe Filtrat gleichzeitig Extrakt und Syphilisserumbestandteile hindurch. Der Nachweis dieser Tatsache geschieht dadurch, daß in solchen Fällen das Filtrat auf Zusatz von Komplement allein dieses bindet.

7) Die Ergebnisse der Filtration sind für eine quantitative Auswertung des Extraktbindungsvermögens syphilitischer Sera verwendbar. Diese von uns eingeführte Methodik wird als Ergänzung der Wassermann-Reaktion für diejenigen Fälle vorgeschlagen, die trotz spezifischer Behandlung unbeeinflußbar erscheinen und bei denen die Wassermann-Reaktion hartnäckig positiv bleibt.

Literatur.

Bruck, Klin. Wochenschr. 1922. S. 1656. — Morgenroth, Münch. med. Wochenschrift. 1903. S .61. — Pfeiffer u. Friedberger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. S. 70. — Sachs, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. S. 216. — Sachs u. Sahlmann, Dtsch. med. Wochenschr. 1921. S. 1083. — Schmidt, H., Med. Klin. 1921. S. 598. — v. Wassermann, Berlin. klin. Wochenschr. 1921. S. 193. — Ders. u. Citron, Klin. Wochenschr. 1922. S. 1101.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Zur Kasuistik der Ulcera ad genitale.

[Aus dem Stadtkrankenhause zu Zittau (leitender Arzt: Prof. Dr. C. Klieneberger).]

Von Dr. **Martin Schneider,** Assistenzarzt der inneren Abteilung.

Bei einem Ulcus der Harnröhrenmündung kommen differentialdiagnostisch hauptsächlich in Betracht: Ulcus durum, U. molle (phagedaenicum), U. acutum (gonorrhoicum), U. traumaticum (onanisticum). Nachstehend soll ein Fall von einem Ulcus orificii urethrae externi erwähnt werden, der infolge akuter Cystitis, begünstigt durch Hypospadie, entstanden ist. Der Befund und Verlauf war kurz folgender:

Anamnese: Bisher keine Erkrankungen. Vor 3 Jahren Operation einer angeborenen Phimose. Plötzlich einsetzende, rasch zunehmende Beschwerden beim Wasserlassen: heftige Schmerzen, dünner Urinstrahl, später nur tropfenweiser Urinabgang, so daß Katheterismus nötig wurde.

Befund: 19-jähr., etwas schwächlicher Pat. Innere Organe ohne Befund. Komplette Zircumzision mit kleinen ödematösen Präputialresten an der ventralen Penisseite. Um das hypospadisch angelegte Orificium urethrae ein etwa linsengroßes, sezernierendes Ulcus, das eine teilweise Verklebung der Harnröhrenmündung bedingt. Beiderseits vergrößerte und leicht empfindliche Leistendrüsen. Gerötete Haut über der linken Leistendrüse und entlang dem linken Samenstrang. Hoden, Nebenhoden, Prostata ohne Befund. Temp. 38,0. Steril entnommener Urin enthält neben einzelnen roten Blutkörperchen, Epithelien und Tripelphosphat massenhaft weiße Blutkörperchen und Kokken.

Die Kultur ergibt Staphylococcus albus. Auf Behandlung mit Bädern, Fol. uv. urs., Hexal, Präzipitatsalbe und Autovakzine verhältnismäßig rasche Abheilung des Ulcus und Abnahme des Eiter- und Bakteriengehaltes des Urins. Bei Entlassung nach 5 Wochen völlig klarer Urin und beschwerdefreies Wasserlassen.

Hinsichtlich der Art und Aetiologie dieser Affektion konnten zunächst Lues, Gonorrhöe und Ulcus molle ausgeschlossen werden (Wa.-R. negativ; im Abstrich keine Spirochäten, Gonokokken und Ulcus-molle-Bazillen). Daß das Ulcus die primäre Affektion war und sekundär eine Cystitis veranlaßt hatte, ist möglich; als wahrscheinlicher aber ist wohl anzunehmen, daß die Cystitis den primären Herd darstellte bedingt oder wenigstens begünstigt durch die vorhandene Hypospadie. Von hier aus ist dann eine Infektion der Harnröhrenmündung erfolgt, wobei irgendein mechanisches Moment mit beteiligt gewesen sein dürfte. Daß die Infektion durch Staphylococcus albus verursacht war, bestätigt unsere früheren Beobachtungen[1]) über die nichtspezifischen Infektionen der Harnwege.

Zusammenfassend möchte ich erwähnen, daß der beschriebene Ulcusfall bemerkenswert ist wegen der Allgemeinerscheinungen, der durch Hypospadie vermittelten Genese und der durch Staphylococcus albus bedingten Infektion bei Fehlen eines sonst gewöhnlichen Erregers.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. H. 4/5. — Bei dieser Gelegenheit möchten wir einen neuerdings beobachteten Fall von hochgradiger Prostatitis gonorrhoica mit dadurch bedingter Cystitis erwähnen, bei dem eine mit Katheterurin angestellte Kultur ebenfalls Staphylococcus albus ergab.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Bericht über den Verlauf einer Y-Ruhr-Epidemie in der städtischen Heilanstalt für Nerven- und Gemütskranke zu Breslau.

[Aus der städtischen Heilanstalt für Nerven- und Gemütskranke zu Breslau (Primärarzt: San.-Rat Dr. Hahn) und aus der Untersuchungsabteilung (Leiter: Prof. Dr. Prausnitz) des Hygienischen Instituts der Universität Breslau (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Pfeiffer).]

Von Dr. **Leo Olitzki.**

Vor der Darstellung des Verlaufes der Epidemie seien folgende Vorbemerkungen über die Anlage des Krankenhauses vorausgeschickt:

Die städtische Heilanstalt für Nerven- und Gemütskranke hat 6 Stationen, 3 für Männer, 3 für Frauen. Zwischen der Männer- und der Frauenseite besteht eine strenge Trennung. Das Betreten einer Station durch Personal oder Patienten des anderen Geschlechts ist strengstens verboten. Hingegen besteht keine Trennung zwischen den 3 Frauen-, bzw. Männerstationen untereinander. Es ergeben sich täglich vielfach Gelegenheiten dazu, daß Personal eine andere Station betritt, z. B. bei Verlegung eines Patienten.

Aus diesen Verhältnissen heraus ist es zu erklären, daß die Fälle von Ruhr, welche im Sommer 1922 im Krankenhause vorkamen, nur auf einer Seite (der Frauenseite) vorkamen, während die streng davon getrennte Männerseite frei blieb. Ferner ist es dadurch erklärlich, daß auf der befallenen Seite sämtliche in demselben Gebäude liegenden 3 Stationen ergriffen wurden und keine einzige Station frei von Ruhrfällen blieb.

Die 3 ersten Fälle traten gleichzeitig am 28. Juni auf; davon befanden sich 2 Kranke auf Station 3, 1 Kranke auf Station 2. Nur in einem Falle (Station 3) wurden im Stuhle Ruhr Y-Bazillen nachgewiesen[1]); der Bazillenbefund in den beiden anderen Fällen war stets negativ, trotz des Vorhandenseins von Schleim und Blut im Stuhle. (Sowohl bei diesen als auch bei allen späteren Fällen erfolgte sofortige Verlegung nach der Infektionsabteilung des Wenzel-Hancke-Krankenhauses. Die Rückverlegung nach der Heilanstalt erfolgte immer nur nach mindestens 3maligem negativen Bazillenbefunde im Stuhle.

Wenige Tage später (am 1. Juli) traten 3 weitere Fälle von Ruhr auf, diesmal auf der 1 Stock tiefer gelegenen Station 2 (1 Fall: Y-Ruhr im Stuhle positiv, 1 Fall: Ruhr negativ, 1 Fall: verdächtige Kolonien mit Proteus überwuchert.

Schon am folgenden Tage (2. Juli) traten auch auf Station 1, wohin eine der am vorhergehenden Tage erkrankten Patientinnen verlegt worden war, 2 Fälle von Durchfall auf (Bazillenbefund in beiden Fällen negativ).

1) Bei diesen Untersuchungen waren die Aussichten zur Ruhrbazillenzüchtung nicht sehr günstig, da das Material stets erst mehrere Stunden nach der Entnahme im Hygienischen Institut verarbeitet wurde.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In demselben Monate kamen nur noch 2 Fälle von akutem Darmkatarrh auf Station 2 vor (am 7. Juli und am 20. Juli). Beide Fälle ohne Bazillenbefund.

Hiermit schien die Epidemie erloschen zu sein, jedoch am 6. und 8. Aug. erkrankten wieder 2 Patientinnen, davon eine auf Station 1, die andere auf Station 2, an heftigen Durchfällen mit Schleim und Blut. Der Bazillenbefund war in dem 1. Falle positiv, im anderen Falle negativ; der Verlauf war jedoch im letzten Falle ein sehr stürmischer, der Ausgang tödlich.

Während des Monats August und während des Monats September traten keine Erkrankungen mehr auf. Die Epidemie schien völlig erloschen zu sein. Da traten plötzlich (am 6. Okt. und 17. Nov.) auf Station 2 wieder 2 Fälle auf. In beiden Fällen wurden Ruhr Y-Bazillen im Stuhle nachgewiesen.

Das immer wieder neue Aufflackern und die schließliche Lokalisation der Epidemie auf Station 2 gaben zu der Vermutung Anlaß, daß es sich um eine Uebertragung des Virus durch einen unter dem Pflegepersonal vorhandenen Bazillenträger handle.

Zur Ermittelung dieses Bazillenträgers wurde auf Anregung von Herrn Prof. Prausnitz (Hygienisches Institut der Universität) folgender Gang der Untersuchung eingeschlagen:

1) Beim gesamten Personal, welches auf den fraglichen Stationen beschäftigt war, wurde die Blutuntersuchung nach Widal vorgenommen. 2) Bei allen Personen, deren Serum in höheren Verdünnungen Ruhrbazillen agglutinierte, wurde die Stuhluntersuchung vorgenommen.

Bei der Blutuntersuchung schienen sich anfänglich insofern Schwierigkeiten zu ergeben, als ein Teil des Personals nicht willens war, sich der Blutentnahme zu unterziehen. Als jedoch die Aerzte selber zuerst sich Blut entnehmen ließen, willigten alle Pflegerinnen ohne Ausnahme ein und ließen an sich die Blutentnahme vornehmen.

Die Technik der Stuhluntersuchung war folgende: Sogleich nach erfolgter Defäkation strich ich den frischen Stuhl an Ort und Stelle mit Drigalski-Spatel in 3 Verdünnungen auf vorher bis 37° C erwärmte Endo-Agarplatten aus. Die Platten wurden sofort in den Brutschrank gestellt und verblieben dort 12—16 Std. Erst danach erfolgte der Transport ins Hygienische Institut zur weiteren Untersuchung der frisch gewachsenen Kolonien.

Das Ergebnis der Widal-Untersuchungen war folgendes:

Von 47 entnommenen Blutproben war der Ruhr-Widal bei 27 negativ, bei 20 positiv für Ruhr-Y, und zwar in 3 Fällen bis 1:480, in 7 Fällen bis 1:240, in 10 Fällen bis 1:120.

Mitagglutination für Flexner-Ruhr erfolgte in 8 Fällen, davon 2mal bis 1:240, 6mal bis 1:120.

Mitagglutination für Shiga-Ruhr 3mal, davon 2mal 1:120, 1mal 1:60.

In 1 Falle war der Titer für Flexner-Ruhr am höchsten (1:240), für Ruhr Y nur 1:120.

Zur Stuhluntersuchung wurden nur die Fälle mit stärker positivem Widal (1:480 und 1:240) herausgezogen. Das Ergebnis war nur in 1 Falle positiv für Y-Ruhr. Es handelte sich um eine Pflegerin [1]), welche meist auf Station 2 beschäftigt war. Dieselbe war Ende Juni, als die ersten Erkrankungen auftraten, ebenfalls an Durchfall erkrankt; sie war

1) Nachträglich wurde festgestellt, daß die Pflegerin vor 8 Jahren im Säuglingsheim auf der Ruhrstation beschäftigt gewesen und dort an Ruhr erkrankt war.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

jedoch nach wenigen Tagen wiederhergestellt, versah vollauf ihren Dienst auf der Station, wo sie unter anderen auch mit Essenausteilen, sowie mit Wegräumen und Reinigen von Geschirr beschäftigt war. Am 19. Nov. wurde sie nach Feststellung als Dauerausscheider vom Dienste beurlaubt und in das städtische Wenzel-Hancke-Krankenhaus zur Behandlung überwiesen. Eine daselbst erfolgte Behandlung mit Autovakzine blieb ohne Erfolg. Der Erfolg einer zurzeit noch dauernden Kur mit „Mutaflor" ist noch abzuwarten.

Seit Beseitigung dieses Dauerausscheiders sind bis jetzt[1]) Fälle von Ruhr nicht mehr in der Anstalt vorgekommen.

Zu erwähnen sind noch hin und wieder auftretende akute Durchfälle bei 3 senilen kachektischen Patienten; das Aussehen der Stühle war jedoch immer unverdächtig, der Bazillenbefund trotz mehrfacher Untersuchung ständig negativ. Die Epidemie kann daher als völlig erloschen gelten.

Es ist jedoch fraglich, ob das Erlöschen der Ruhrepidemie allein auf die Beseitigung des Dauerausscheiders zurückzuführen ist, oder ob nicht vielmehr der für die Verbreitung der Ruhr ungünstige Eintritt des Winters zu berücksichtigen ist. Auskunft hierüber wird die Zukunft geben. Vor allem wird sich eine nochmalige Stuhluntersuchung aller Angestellten mit höherem Ruhr-Widal vor Beginn des Sommers empfehlen.

Der Verlauf und das Ergebnis der Untersuchungen, sowie der Erfolg der auf Grund dieses Ergebnisses vorgenommenen Maßnahme zeigen, von welcher Wichtigkeit in größeren Pflegeanstalten, besonders in Anstalten mit oft wechselndem Bestande an Personal und Patienten, eine in bestimmten Zeitabständen, vor allem vor Eintritt des Sommers, vorgenommene Blut- eventuell Stuhluntersuchung des Personals und aller in der Wirtschaft beschäftigten Patienten sein kann. Bei größerer Entfernung der nächsten bakteriologischen Untersuchungsstelle ist die Anschaffung der zur bakteriologischen Untersuchung notwendigsten Einrichtungen, zum mindesten zur Ermöglichung der ersten Bebrütung der Nährböden an Ort und Stelle dringend zu empfehlen, da bei längerem Transporte der Stuhlproben die pathogenen Mikroorganismen zugrunde gehen.

Nachdruck verboten.

Der Hühnertyphus und seine Bekämpfung.

[Mitteilung aus dem Bakteriologischen Institut der königl. ung. tierärztlichen Hochschule (Direktor: Dr. Aladár Aujeszky, o. ö. Professor).]

Von Assistent Dr. **Josef Csontos.**

Die von Klein, Moore, Greve, Smith und Ten Broeck, Pfeiler und Rehse, Kraus, Lignières und Zabula, Lucet, Van Straaten und Te Hennepe, sowie von d'Herelle und Andersen unter verschiedenen Namen beschriebenen infektiösen und epidemischen

1) 1. April 1923.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Erkrankungen der Hühner benannte Pfeiler „Hühnertyphus", offenbar aus dem Grunde, weil der Erreger der Krankheit, sowohl morphologisch, als auch in der Kultur, in seinem Verhalten verschiedenen Zuckerarten und Alkoholen gegenüber, als auch immunbiologisch sehr dem Erreger des menschlichen Typhus ähnelt. Der Unterschied zwischen ihnen ist nicht groß, nur bewegt sich der Erreger des Menschentyphus mit Hilfe der an seinem Körper sitzenden Flimmerhaare lebhaft, zerlegt Dulzit nicht und bildet im Sorbit Säure, während der Bazillus des Hühnertyphus sich nicht bewegt, in Dulzit Säure bildet und Sorbit nicht verändert.

Diese Krankheit, die ziemlich empfindliche Verluste verursacht (50 bis 80 Proz.), beschrieb zuerst Klein 1889 in England. Nachher wurde sie in Amerika, neuerlich in Deutschland, Frankreich und Böhmen, im Frühjahr vergangenen Jahres jedoch auch in Ungarn festgestellt. In welchem Maße sie bei uns schon verbreitet ist, darüber können zurzeit keine Daten mitgeteilt werden, denn da die Krankheit in den Symptomen und den pathologisch-anatomischen Veränderungen sehr der Geflügelcholera und der weißen Ruhr ähnelt, da außerdem der Hühnertyphus bei uns bis jetzt nicht festgestellt war, wurden die einzelnen Epidemien für Geflügelcholera bzw. Ruhr gehalten.

Im Frühjahr des verflossenen Jahres hatte ich Gelegenheit, in Ungarn eine infektiöse Erkrankung bei jungen Hühnchen, alten Hühnern, Enten und Truthühnern zu beobachten, welche Krankheit sich sowohl in Bezug auf die pathologisch-anatomischen Veränderungen, als auch auf den Krankheitserreger als identisch erwies mit dem Hühnertyphus, bzw. einige pathogene Stämme mit dem bei der Dysenterie des Menschen durch Flexner beschriebenen Typus II, sowie mit dem von Horiuchi unter dem Namen Bac. febris exanthemici Mandschurici besprochenen und mit dem von Klein aus dem Birkhuhn gezüchteten Bakterium.

Ueber die Anamnese und die pathologische Anatomie des Falles will ich kurz Folgendes bemerken:

Am 3. April 1922 legte ein hiesiger Züchter 160 Stück Eier in den Brutapparat ein. Von den Eiern schieden am Ende der 1. Woche 20 als unfruchtbar aus, in der 2. Woche 10 Stück teilweise als unfruchtbar, teilweise als trübe, in 30 aber erstickte das Küchlein. So ergaben denn die 160 Eier im Endresultat 100 Küchlein. Von den Hühnchen begannen einzelne nach 1 Woche zu kauern, trotz gutem Appetit abzumagern, es trat Durchfall auf, der die Flaumfedern in der Umgebung des Anus beschmutzte und zu einem graubraunen, grünlich-braunen Klumpen verklebte, worauf dann Kot nicht mehr entleert wurde und die Kranken nach 2—3 Tagen zugrunde gingen, mit Ausnahme einiger wenigen, welche scheinbar heilten. Von den Hühnchen wurde eine aus 30 Stück bestehende Gruppe, aus der inzwischen 5 Stück umgestanden waren, in die Provinz abgeschoben; von ihrem weiteren Schicksal ist nichts mehr bekannt; von der anderen, aus 70 Stück bestehenden Gruppe blieben schließlich 25 Stück übrig. Diese sind im Alter von 2 Mon. lebhaft, nur etwas mager, in der Entwicklung zurückgeblieben und mehrere von ihnen haben Durchfall.

Aus diesem Bestande sezierte ich 12 Hühnchen, 1 Henne und 1 Truthahn. Der Sektionsbefund ist kurz der folgende: Bei jedem Hühnchen war die verschieden starke, gelbe Verfärbung des Unterhautbindegewebes auffallend. Das Keimblatt war bei jedem vorhanden, seine Größe schwankte zwischen der einer Erbse und eines Taubeneies. Die Leber war bei allen Hühnchen, mit Ausnahme von 2, bei denen sie sich normal zeigte, vergrößert; bei einzelnen waren auf dem braun-roten Grunde nadelstichgroße, gelbe, runde Flecken mit undeutlicher Grenze und manchmal auch einige kleine Blutungen in der Nähe der Ränder zu sehen. Die Milz, sowie auch die Nieren sind bei allen normal. Die Schleimhaut des Darmes ist in den meisten Fällen nicht röter wie gewöhnlich, aber immer geschwollen und aufgelockert, der Darminhalt dünnflüssig, seine Farbe grünlich-gelb oder gelblich-grün. Die Kloake ist stark erweitert. In der Herzmuskulatur des einen Hühnchens waren kleine, fahlgelbe Herde. In den aus der Leber

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und dem Herzblut angefertigten Präparaten konnten gewöhnlich Bakterien in großer Zahl gefunden werden, nur in 2 Fällen gelang es nicht, solche in der Leber oder im Blute zu finden, und in einem weiteren Falle waren in der Leber keine und auch im Blute nur in kleiner Anzahl solche anzutreffen. Mit Ausnahme eines Falles wuchs jedesmal das später zu besprechende Bakterium in Reinkultur.

Bei dem notgeschlachteten Huhn, welches seit einer Woche lahm ging, Durchfall hatte und abmagerte, fand ich die folgenden Veränderungen: Die Carpalgelenke des sehr abgemagerten Kadavers waren ringsum geschwollen, fluktuierend und beim Einschneiden entleerte sich aus ihnen eine trübe, gelbliche, zähe Masse. Zwischen den normalen Eiern befanden sich 2 mit einer trüben, zähen Masse angefüllte, von denen das eine mit einem taubeneigroßen, 3-schichtigen, dem gekochten Eidotter ähnlichen, schmutzig-braungelben Koagulum verwachsen war. Die Leber ist auf das Doppelte vergrößert, grünlich, gelblich-braunrot; in ihrer Substanz sind überall stecknadelkopfgroße, nekrotische Herde. Die Milz wenigstens 20-fach vergrößert, ihre Follikel vergrößert und in ihrer Substanz finden sich nekrotische Herde. In dem Darme ist eine große Menge einer grünlichen, schleimigen Masse, die Schleimhaut geschwollen, nicht rot. In der rechten Herzhälfte befinden sich teilweise runde, teilweise längliche, nekrotische Herde. Aus der Leber und dem krankhaft veränderten Ei entwickelt sich in 1 Tage eine Reinkultur.

Bei dem Truthahn fanden sich ähnliche Veränderungen, wie bei dem Huhn, außerdem war die Schleimhaut des Darmes überall stark geschwollen, an der Stelle des Eintrittes der Galle scharlachrot, auf der Oberfläche der Schleimhaut die Mucosa den ganzen Darmtrakt entlang inselweise abgestorben. Zur selben Zeit stand ein Zuchtenterich um, der unter ähnlichen Symptomen krank war, wie das Truthuhn, außerdem zeitweise hinkte und 1mal ein paar Tage hindurch ohne jeden nachweisbaren Grund vollkommen gelähmt war. Zugleich wurde eine alte Gans aus ähnlichen Gründen notgeschlachtet. In diesen 2 letzten Fällen unterblieb die Sektion.

Die Gestalt des Bakteriums ähnelt sowohl in den aus den Organen und dem Blute angefertigten Präparaten, als auch in jenen, welche aus mit Leber und Blut beimpften Nährböden hergestellt wurden, sehr dem Erreger der Geflügelcholera, wie wir diesen in Präparaten sehen, die aus Kadavern stammen, erscheint aber etwas dicker, wie der bipolare Bazillus. Es ist unbeweglich und gramnegativ.

16 Stämme untersuchte ich eingehender, die auf Grund ihres Verhaltens gegenüber den Nährböden in 2 Typen eingereiht werden können.

Die zu dem 1. Typus gehörigen entwickeln sich in Bouillon schwächer, wie die des 2. Typus, der Fleischwassernährboden wird durch beide in gleichem Maße getrübt, um dann mit Bildung eines Bodensatzes sich zu klären. Der 1. Typus ergibt weniger, der 2. mehr Bodensatz und auf der Oberfläche des letzteren bildet sich auch ein Häutchen.

Auf Agar bilden sich innerhalb 24 Std. scharfrandige, runde, sich hervorwölbende Kolonien von einem Durchmesser von 1—3 mm, die Kolonien des 1. Typus sind etwas kleiner. Später kann an den einzelnen Kolonien die von Pfeiler und von Kraus beschriebene konzentrische Schichtung beobachtet werden. An dem Rande der Kolonien entwickeln sich ringsum kleine, sekundäre Kolonien, welche schließlich dem Ganzen ein an Chrysanthemum erinnerndes Bild geben.

Auf Drigalski-Agar wachsen beide Typen in blauer Farbe, auf Endo-Agar farblos. Die Bakterien des 1. Typus bringen die Milch nicht zur Gerinnung, doch wandeln sie diese langsam zu einer gelblich-durchscheinenden Flüssigkeit um, Gelatine verflüssigen sie nicht, Gas und Indol erzeugen sie nicht, auf Kartoffel bilden sie einen glänzenden, weißen Belag, mit Ausnahme des Stammes IX/p, dessen Kartoffelkultur blaß gelblich-grau ist. Von den zu dem 2. Typus gehörenden Stämmen bringt der Nr. VI die Milch am 2., die übrigen am 3. Tage zur Gerinnung, Gelatine verflüssigt keiner, den Zuckeragar sprengen sie unter Bildung von Gas am 1. Tage, der 3. Stamm erzeugt Indol, die übrigen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aber geben eine unbestimmte Indolreaktion, auf Kartoffel bilden sie einen gelblich-grauen, dicken Belag.

Die Lackmusmolke wird durch den 1. Typus zuerst leicht gerötet, dann stark blau gefärbt, der 2. Typus dagegen rötet sie stark. Der 1. Typus färbt Mannit schwach, Maltose stärker, Traubenzucker am stärksten rot, Rohr-, Milchzucker und Glyzerin wird durch ihn nicht verändert. Die Barsiekow-Lösung I bringt er am 7. Tage zur Gerinnung.

Von den Bakterien der 2. Gruppe rötet der Stamm Nr. VI den Trauben-, Rohr- Milchzucker und die Maltose, der Nr. XII außerdem auch das Mannit; Barsiekow I wird von beiden zur Gerinnung gebracht, von dem Nr. XII auch noch Barsiekow II. Die übrigen Stämme zerlegen nur Traubenzucker, Maltose und in geringem Grade Mannit infolge Bildung von Säure; Rohr- und Milchzucker, sowie Glyzerin verändern sie nicht. Die letzteren Stämme bringen nur Barsiekow I zur Gerinnung.

Interessant ist das Verhalten der Bakterien einigen Immunseris gegenüber.

Die Bakterien des Typus 1 agglutinierte das Typhusserum von dem Titer 4000 selbst über die Verdünnung 1 : 3200 stark, das Paratyphus B-Serum von dem Titer 10 000 in einer Verdünnung von 1 : 400, während das Flexner-Serum von dem Titer 6000 bloß in der Verdünnung 1 : 25 die Bazillen zu Klümpchen zusammenballt.

Die Bakterien der 2. Gruppe dagegen agglutiniert weder das Typhus-, noch das Paratyphus B-, noch das Flexner-, ebensowenig das Coli-Serum, nur das Flexner-Serum ballt unter den Vertretern dieser Gruppe den Stamm Nr. III in einer Verdünnung 1 : 200 zusammen.

Versuche mit künstlicher Ansteckung führte ich an einem Kaninchen und 12 Tauben aus.

Eine Normalöse einer 24-stünd. Agarkultur des die Eigenschaften des 1. Typus zeigenden Stammes verrührte ich in 1 ccm physiol. Kochsalzlösung und injizierte davon 0,4 ccm einem Kaninchen unter die Haut. Nach 6 Tagen zeigte sich Nekrose der Haut und der Faszie mit Eiterung. Nach 1 Woche injizierte ich 0,4 ccm einer 24-stünd. Fleischwasserkultur desselben Stammes in die Vene; nach 4 Tagen ging das Kaninchen ein. Sektionsbefund: 4-fach vergrößerte Milz, mit sich hervorwölbender, trockener Substanz, Lebervergrößerung mit abgekapseltem Abszeß, der bröckeligen Eiter enthält. Kleine Blutungen in der Lunge, unter dem Perikardium und auf dem Brustfell, nekrotische Herde in der Herzsubstanz. Aus der Leiche wuchsen Bakterien mit den Eigenschaften des 1. Typus.

Die bei der 1. Ansteckung des Kaninchens mit 0,2 ccm der Emulsion intramuskulär geimpfte Taube ging nach 4-täg. Krankheit zugrunde. Hämorrhagische Nekrose an der Impfstelle, die Schleimhaut des Drüsenmagens und des Darmes ist lebhaft gerötet, geschwollen, Blutungen unter dem Perikardium. Die aus der Leiche gewachsenen Bakterien zeigen die Eigenschaften des 2. Typus.

Das Ergebnis dieser 2 Versuche ist sehr eigentümlich, da Kaninchen und Taube mit demselben Stamm infiziert waren und trotzdem aus dem Kaninchen das Bakterium des 1. Typus, aus der Taube dagegen das des 2. Typus wuchs.

Von den übrigen mit 24-stünd. Fleischwasserkultur infizierten 11 Tauben heilten 6 nach vorübergehendem Unwohlsein, Lahmheit und

Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Lähmung, 5 dagegen gingen nach 4—7—25-täg. Krankheit zugrunde. An den Kadavern war Nekrose der Impfstelle, Vergrößerung der Leber und Milz, Entzündung des Drüsenmagens und des Darmes in einzelnen Fällen mit Anschwellung, Nekrose und Ulzeration der Follikel und mit Blutungen zu konstatieren.

Da aus den zahlreichen einschlägigen, auf jedes Detail eingehenden, gründlichen kritischen Arbeiten von Pfeiler und seinen Mitarbeitern, weiterhin aus den Beobachtungen von Smith und Ten Broeck klar hervorgeht, daß die von Klein, Moore, Greve, Smith und Ten Broeck, Van Straaten und Te Hennepe, Pfeiler, Kraus und anderen beobachtete und unter verschiedenen Namen beschriebene infektiöse Erkrankung der Hühner sowohl pathologisch-anatomisch, als auch ätiologisch mit dem „Hühnertyphus" Pfeilers identisch ist, welchen ebenfalls gemäß seiner Benennung der Bac. typhi alcalifaciens verursacht, und da das durch die obigen Forscher beschriebene Krankheitsbild, die Versuchsergebnisse, sowie die Kultur-, chemo- und immunbiologischen Eigenschaften des Krankheitserregers die jetzt mitgeteilten Sektions-, Versuchs- und bakteriologischen Ergebnisse vollkommen decken, ist es nicht zu bezweifeln, daß auch das von mir beschriebene Krankheitsbild mit dem Pfeilerschen Hühnertyphus identisch ist und das Bakterium des 1. Typus dem Bac. typhi alcalifaciens entspricht. Die Bazillen des 2. Typus ähneln sehr dem Bac. coli, und auf Grund ihrer Eigenschaften scheinen sie identisch mit dem von Klein beim Birkhuhn, von Flexner und Horiuchi beim Menschen beschriebenen Bakterium zu sein.

Interessant erscheint meine schon oben erwähnte Beobachtung, daß der in die 1. Gruppe gehörende Stamm Nr. II nach Kaninchenpassage die Eigenschaften der 1. Gruppe, nach Taubenpassage die der 2. Gruppe zeigt, weiterhin jene Beobachtung, daß der Stamm IX/p, der zur 1. Gruppe gehört, im Gegensatz zu den übrigen hierher gehörenden, auf Kartoffel einen gelben Belag, der 2. genannte Stamm, der zur Gruppe 2 gehört, auf Kartoffel einen glänzenden, weißen Belag bildet, ebenfalls im Gegensatz zu den übrigen in diese Gruppe gehörenden Bakterien, weiterhin, daß der Stamm III/g, aus Blut gezüchtet, auf Kartoffel in glänzendweißer, aus der Leber gezüchtet, in blaß-gelber Farbe wächst. Aus diesen Erscheinungen kann man auf die nahe Verwandtschaft der 2 Typen schließen. Die enge Verbindung zwischen den Bakterien der 2 Gruppen scheint auch das Resultat der 10 Tage nach der Infektion mit dem Blutserum der infizierten Tauben angestellten Agglutinationsprobe zu bekräftigen, außer den an sämtlichen Versuchstieren hervorgerufenen, vollkommen gleichen anatomischen Veränderungen. Das Blutserum der infizierten Tauben nämlich agglutiniert nicht nur die zur Infektion verwendeten, sondern auch die Bazillen des entgegengesetzten Typus in fast gleicher Weise.

Das Bestehen einer nahen Verwandtschaft zwischen den 2 Bakterientypen beweist weiterhin das Ergebnis des folgenden Versuches: Die nach vorübergehender Krankheit geheilten Tauben infizierte ich 2 Mon. später mit der 5-fachen Menge des Infektionsstoffes aufs Neue, doch geschah die 2. Ansteckung bei den einzelnen Tauben mit bei der 1. Infektion gebrauchten, entgegengesetzten Bakterientypen. Während nach der 1. Infektion die Tauben 10 Tage lang krank waren, einzelne sogar hinkten und gelähmt wurden, hinterließ die 2. Ansteckung, die viel stärker war, absolut keine Veränderung. Das heißt, die Bazillen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des 1. Typus rufen auch für den 2. Typus eine Immunität hervor, und umgekehrt.

Nach den obigen Ausführungen spielen bei uns daher in der Aetiologie des Hühnertyphus 2 Bakterienarten eine Rolle. Die eine Art erzeugt Gas und bringt die Milch zur Gerinnung, die andere dagegen tut dies nicht. Trotz dieser 2 entgegengesetzten Eigenschaften müssen wir die zweierlei Bakterien, nach dem oben Gesagten, für nahe Verwandte halten.

Da schon die Daten der Anamnese auf die Infektion der Eier hinwiesen und da ich in dem geschlachteten Huhne infizierte Eier fand, wurde es offenbar, daß die infizierten Eier mit dem Keime der Krankheit aus einem kranken Huhne stammen. Zwecks Bekämpfung der Krankheit wurde daher die Ausarbeitung solcher Methoden für wichtig gehalten, mit deren Hilfe die infizierten Tiere erkannt werden können. Zu diesem Zwecke nahm ich die Agglutinationsprobe in Anspruch. Dieser Probe unterwarf ich 15 Hennen und 2 Hähne. Aus den Untersuchungen ging hervor, daß den Vertreter des 2. Typus bloß das Blut zweier Hennen agglutinierte in einer Verdünnung von 1 : 50. Den Vertreter des 1. Typus agglutinierte das Blut von 3 Hennen in der Verdünnung 1 : 50 zweifelhaft, in der Verdünnung 1 : 100 dagegen das zweier Hennen, das Blut von 2 Tieren ergab in einer Verdünnung 1 : 800, und das von 10 in einer Verdünnung 1 : 1600 ein positives Ergebnis. Der Hahn Nr. 2, dessen Blut in einer Verdünnung von 1 : 1600 positives Resultat zeigte, wurde bei der Sektion als krank befunden (in der Leber 4 stecknadelkopfgroße Herde, in der Milz ein erbsengroßer, nekrotischer Herd) und aus der Leber wuchs in Reinkultur das Bakterium des 1. Typus.

Da bei der Ausführung der Agglutinationsprobe sich gewisse Schwierigkeiten ergeben, versuchte ich an den obigen Tieren eine leichter ausführbare Probe, die Intrakutanprobe. Ihre Ausführung ist sehr einfach: Ein Gehilfe umfaßt die Flügel mit einer Hand bei ihrer Wurzel, mit der anderen dagegen die Füße. Ein anderer Gehilfe befestigt den Kopf, indem er diesen und den Schnabel ergreift. Darauf stechen wir entlang dem Rande des einen Kehllappens die dünne Nadel ein und spritzen vom Bakterienextrakt 0,2 ccm in den Stichkanal ein. Das Resultat dieser Probe war folgendes: an den Kehllappen von 5 Hennen zeigte sich weder nach 12, noch nach 24, noch nach 48 Std. eine Veränderung; bei diesen war auch die Agglutinationsprobe negativ. An dem Kehllappen von 4 Hühnern, bei welchen die Agglutinationsprobe positiv war, zeigte sich eine kaum merkbare Anschwellung, dagegen schwoll bei 8 Hühnern, deren Blut eine positive Agglutinationsprobe gab, der Kehllappen auf das 2—8-fache an, die Falten glätteten sich und ihre Oberfläche wurde ödematös glänzend. Die Anschwellungen waren nach 12 Std. am stärksten, nach 48 Std. verschwanden sie.

Bei dem Vergleich der 2 Proben zeigt es sich, daß die negativen Reaktionen bei beiden sich vollkommen decken; demgegenüber ergab die Agglutinationsprobe in mehr Fällen ein positives Resultat, wie die intrakutane Probe, denn 4 Hühner mit positiv reagierendem Blute zeigten nur eine zweifelhafte Kutanprobe.

Nach dem Ablauf der Reaktion ließ ich 2 Hühner, welche bei beiden Proben ein negatives Ergebnis zeigten, schlachten. Bei ihrer Sektion wurden absolut keine Veränderungen gefunden. Dagegen fiel bei der Sektion eines weiteren Huhnes, welches bei beiden Proben positiv

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

reagierte, die Vergrößerung der Leber und Milz mit Hyperplasie und nekrotischen Herden auf.

Diese Resultate zeigen, daß die intrakutane Probe zur Erkennung der kranken und infizierten Tiere gut gebraucht, bei zweifelhaftem Ergebnis dagegen mit der Agglutinationsprobe ergänzt werden kann, in solchen Fällen, wo es sich um wertvolle Zuchttiere handelt.

Der erste Schritt bei der Bekämpfung wäre daher, mit einer der obigen Proben die infizierten Tiere festzustellen, diese von der Zucht auszuschließen und als Bazillenträger von den Uebrigen zu separieren.

Da der Krankheitserreger ziemlich widerstandsfähig ist, kann angenommen werden, daß der einmal infizierte Boden seine Ansteckungsfähigkeit längere Zeit hindurch behält. Daher müßten die jungen Küchlein auf dem infizierten Gebiete zuerst mit einem Blutserum geimpft werden, welches mit Hilfe der vorher erwärmten Stämme hergestellt wird, damit sie unter dessen Schutze soweit heranwachsen, bis sie mit Vakzin dauernd immunisiert werden können, da die Wirkung des Blutserums nicht lange besteht. Aus obigen Gründen müßten die heranwachsenden Tiere ebenfalls mit Vakzin geimpft werden.

In den chronischen Fällen halte ich die Impfung der kranken Tiere nicht für angezeigt, denn ich glaube nicht, daß diese gerettet werden können, sind doch dann schon solch schwere Veränderungen in der Leber und der Milz vorhanden, daß deren Reparation nicht mehr möglich ist.

Meine auf die Herstellung des Vakzins und auf die Ueberprüfung seiner Wirkung bezüglichen Versuche, welche ich zuerst an 5 Tauben und 10 Hühnchen, später dann mit Unterstützung des ungarischen Ackerbauministeriums, an weiteren 50 Hühnchen durchführte, endigten mit gutem Erfolge. Die mit Vakzin behandelten Tiere widerstanden 20 Tage nach der Impfung einer starken Infektion, während die zu gleicher Zeit infizierten Kontrolltiere infolge der Ansteckung zugrunde gingen.

Literatur.

Klein, Ueber eine epidemische Krankheit der Hühner, verursacht durch einen Bazillus — Bacillus Gallinarum. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 1. 1889. S. 689.) — Ders., Ueber eine akute infektiöse Krankheit der schottischen Moorhühner. (Ebenda. Bd. 6. 1889. S. 36.) — Lucet, Sur une nouvelle énterite diarrhéique enzootique des poules. (Rec. de méd. vét. 1895. p. 156.) — Moore, Infectious Leukaemia in fowls-a bacterial disease, frequently mistaken for fowl-cholera. (Zit. Baumgartens Jahresber. Bd. 12. 1897. S. 702.) — Smith u. Ten Broeck, Agglutination affinities of a pathogenie bacillus from fowls (fowl typhoid, Bac. sanguinarum Moore; with the typhoid bacillus of man.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 64. 1916. S. 254.) — Mazza, Bakteriologische Untersuchungen über eine neuerdings aufgetretene Hühnerepizootie. (Ebenda. Bd. 26. 1899. S. 181.) — Greve, Beobachtungen über eine von der Braunschweiger Geflügelausstellung in die Stadt und das Amt Oldenburg eingeschleppte Hühnerseuche. (Ebenda. Bd. 21. 1902. S. 18.) — Lignière et Zabula, Ueber eine neue Hühnerkrankheit. (Bull. Soc. cent. de méd. vét. 1905. p. 453.) — Van Straaten et Te Hennepe, De Kleinsche Kippenziekte. (Mededeell v. de Rijksseruminricht. 1907; zit. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 85. 1920.) — Baumgarten, Lehrbuch der pathogenen Mikroorganismen. Leipzig 1911. S. 624. — Pfeiler u. Rehse, Bac. typhi gallinarum alcalifaciens und die durch ihn verursachte Hühnerseuche. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. I. 1913.) — Pfeiler und Roepke, Zweite Mitteilung über das Auftreten des Hühnertyphus und die Eigenschaften seines Erregers. (Ebenda. Bd. 79. 1917.) — Müller, Ueber den Zusammenhang des Paratyphus der Tiere mit dem Paratyphus des Menschen. (Ebenda. Bd. 81. 1918. S. 505.) — Kraus, Zur Kenntnis des Hühnertyphus. (Ebenda. Bd. 82. 1919.) — Pfeiler, Einige Bemerkungen zur Hühnertyphusfrage. (Ebenda. Bd. 83. 1919. S. 369.) — Ders., Identitätsnachweis für den Erreger der Kleinschen Hühnerseuche und den Pfeiler-Rehseschen Hühnertyphusbazillus. (Ebenda. Bd. 85. 1920/21.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

S. 193.) — Claussen, Ueber Coli-Bakterienseptikämie bei Hühnern als Transportkrankheit. (Ebenda. Bd. 40. S. 740.) — Flexner, The Etiology of Tropical Dysentery. (Ebenda. Bd. 28. 1900. S. 625.) — Horiuchi, Ueber einen neuen Bazillus als Erreger eines exanthematischen Fiebers in der Mandschurei während des japanisch-russischen Krieges, „Bacillus febris exanthematici Mandschurici." (Ebenda. Bd. 46. 1908.)

Nachdruck verboten

Entgegnung auf die Bemerkung von Prof. Martin Mayer zu der Arbeit von Kurt Hesselbach: Die trypanozide Wirkung von „Bayer 205" auf Trypanosoma equiperdum.

Bd. 89. H. 4/5. S. 48 dieser Zeitschrift.

Von Kreistierarzt Dr. **Kurt Hesselbach,** Gera (Reuß).

Meine von Herrn Prof. Mayer kritisierte Arbeit stellt, wie er aus dem Charakter und der Anlage unschwer hätte erkennen können, eine Inaugural-Dissertation dar, deren Schwerpunkt mit Rücksicht auf die Bedeutung von Bayer 205 für die Bekämpfung der 1920 in Thüringen festgestellten Beschälseuche zunächst auf veterinärem Gebiete lag. Es kann füglich nicht geschlossen werden, daß die Versuchsprotokolle über das erste, an natürlicher Beschälseuche leidende und mit dem Präparat behandelte Pferd mit dem Thema nur lose im Zusammenhang stünde. Unrichtig ist, daß „jeder Hinweis auf die von Mayer und Zeiß 1920 veröffentlichten Beobachtungen der 205-Wirkung der Trypanosomen fehlt", wie Mayer ja auch selbst angibt, daß die Arbeit mit den Worten: „Sie (Mayer und Zeiß) fassen ihre Ergebnisse, wie folgt, zusammen" zitiert ist.

Die Schilderung der Mayer-Zeißschen Versuche nimmt in meiner Arbeit über $^1/_2$ Seite im Petitdruck ein. Wenn ich dabei über die Wiedergabe der Mayer-Zeißschen Versuche noch hinaus gegangen bin, indem ich aus der Arbeit selbst noch 3 Daten über die in vitro-Versuche der Autoren gebracht habe, so wollte ich damit die Bedeutung der Arbeit nur betonen.

Da Mayer gleichzeitig darauf hinweisen zu müssen glaubt, daß Schuckmanns Arbeit über den gleichen Gegenstand „gar nicht zitiert" worden ist, so erklärt sich dies sehr zwanglos: Meine Arbeit war abgeschlossen — Promotion erfolgte bereits Juli 1921 — ehe die Schuckmannsche erschien.

Mit Rücksicht auf die Drucklegung als Dissertation habe ich die seinerzeit der zuständigen Fakultät eingereichte Fassung auch für den Druck zugrunde legen müssen.

Wenn vielleicht meiner Arbeit ein Vorwurf gemacht werden könnte, so ist es der, auf den ich durch die Kritik Mayers aufmerksam gemacht worden bin, daß nämlich die vor Mayers oder gleichzeitig mit ihr erschienene Arbeit von Haendel und Joetten, die die ersten grundlegenden Daten über Bayer 205 gebracht hat, zu knapp von mir behandelt worden ist. Mir hat aber auch dabei, genau wie gegenüber der Mayer-Zeißschen Arbeit, jede Absicht fern gelegen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber Sparganum Raillieti Rátz und den zugehörigen geschlechtsreifen Bandwurm, Dibothriocephalus Raillieti Rátz[1]).

Von Dr. **A. Kotlán,** Tierärztliche Hochschule, Budapest.

Mit 9 Abbildungen im Text.

Mit dem Namen Sparganum Raillieti hat v. Rátz (26) 1912 ein Plerocercoid beschrieben, welches in der Muskulatur (intermuskuläres Bindegewebe) eines Schweines gefunden wurde und als solches den ersten Fund aus europäischen höheren Säugetieren darstellte. In den folgenden Jahren berichtet v. Rátz (28) über weitere Funde aus teils serbischen, teils scheinbar ungarischen Schweinen. Der Sitz dieser Finnen war auch in diesen Fällen meistens die Schenkelmuskulatur, einmal das Unterhautbindegewebe bzw. die hier befindliche Fettschicht. In 2 Fällen, wo die Würmer in der Muskulatur saßen, war die betreffende Stelle serös infiltriert bzw. mit kleinen Blutungen besetzt.

Dem durch v. Rátz beschriebenen Plerocercoid ähnliche Finnen waren auch früher schon bekannt. So führt v. Rátz das aus einem Chinesen beschriebene und später von mehreren Forschern beobachtete Sp. Mansoni, dann das durch Railliet und Henry (24) vorläufig ebenfalls zur letztgenannten Form gestellte Plerocercoid aus einem annamesischen Schweine, ferner das mit dem Namen Sp. proliferum von Ijima aus einer Japanerin beschriebene Plerocercoid an.

v. Rátz hat 2mal auch Fütterungsversuche angestellt, indem er Plerocercoide an Hunde verfütterte. Wie aus den Mitteilungen ersichtlich, konnte auf Grund dieser Experimente festgestellt werden, daß es sich, wie ja nicht anders zu erwarten war, um die Finne eines Bothriocephaliden handelte, der auch im Darmkanal des Hundes sich ansiedeln und zur Geschlechtsreife gelangen kann.

Da jedoch v. Rátz den durch das Experiment erreichten geschlechtsreifen Bandwurm nicht beschrieben hat, so blieb die Frage bis jetzt offen, was für ein Bothriocephalide eigentlich das definitive Stadium dieser Finne sei. Die Lösung dieser Frage verspricht um so mehr Interesse, da mittlerweile Yoshida (32) das geschlechtsreife Stadium des Sp. Mansoni oder richtiger Dibothriocephalus Mansoni Cobb. experimentell, durch Verfütterung der nach Manson benannten Finnen an einen Hund, erzeugen konnte und auf Grund der Untersuchung des geschlechtsreifen Wurmes die Meinung äußerte, daß es sich um einen dem D. latus zwar ähnlichen, jedoch von diesem verschiedenen Bandwurm — Bothriocephalus liguloides, wie ihn Yoshida nennt — handelt.

Nach dem frühzeitigen Tode des Prof. v. Rátz hatte ich mir des öfteren die Aufgabe gestellt, die durch den Versuch gewonnenen und in der Sammlung weil. Prof. v. Rátz aufbewahrten Ketten einer Untersuchung zu unterziehen. Da jedoch die betreffenden Gläser nicht entsprechend etikettiert waren, blieb ich über die Identität dieser Würmer mit den von dem Versuch herrührenden nur auf unsichere Vermutungen angewiesen und mußte wohlbegreiflich bis aufs weitere davon Abstand nehmen, aus den Untersuchungsresultaten etwaige Folgerungen zu ziehen. Erst in jüngst verflossener Zeit bot sich mir Gelegenheit, der Lösung dieser Frage näher treten zu können.

1) Mit Unterstützung der „Hangya"-Produktions-, Verwertungs- und Konsumgenossenschaft, der Zentrale des Bundes ungarischer Landwirte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zu Beginn des Frühjahrs 1922 erhielt ich von Herrn M. Rónai, Obertierarzt am Budapester Schlachthofe, 4 Exemplare eines Plerocercoiden, die sich bei der Untersuchung als mit der von v. Rátz beschriebenen Form identisch erwiesen. Es sei mir gestattet, genanntem Herrn für die Ueberlassung des seltenen Materials auch an dieser Stelle meinen besten Dank auszusprechen.

In den folgenden Zeilen will ich zuerst die Plerocercoide kurz beschreiben und dann über die Resultate der weiteren Experimente berichten, die zwar teils infolge unerwünschter Nebenumstände, teils wegen der Knappheit des Larvenmaterials nicht in dem ursprünglich beabsichtigten Umfange vorgenommen werden konnten und folglich auch bis zu einem gewissen Grade unvollständig blieben. Ich hoffe jedoch, sobald ein neuerer Plerocercoidenfund mich in die Lage setzt, diese Versuche fortführen und den ganzen Entwicklungsgang dieses Wurmes feststellen zu können.

Das Plerocercoid.

Wie schon erwähnt, wurden die von v. Rátz beschriebenen Plerocercoide teils in serbischen, teils aber angeblich ungarischen Schweinen gefunden. Die Herkunft dieser letzteren war nicht einwandfrei sicher feststellbar, weshalb auch über die geographische Verbreitung dieser Larven keine genauen Feststellungen gemacht werden konnten, welcher Umstand jedoch mit Rücksicht auf den geschlechtsreifen Wurm und dessen Wirt von Wichtigkeit erscheint.

Die mir zur Verfügung stehenden Exemplare wurden aus der Schenkelmuskulatur eines in Ungarn (Com. Csongrád, an der Theiß) gezogenen Schweines entnommen. Sie saßen tief in der Muskulatur, teils in zystenartigen Gebilden zurückgezogen, teils frei zwischen den Muskelfasern mit dem Kopfende eingebohrt. Die Muskulatur der Ansiedelungsstelle war in einem ungefähr 20-pfennigstückgroßen Umfange saftreich, dunkelbraunrot gefärbt und mit kleinen Blutungen besetzt. Bezüglich der Größenmaße sowie der Bewegungslebhaftigkeit konnten zwischen den Würmern deutliche Unterschiede festgestellt werden, die ich teils auf verschiedene Kontraktionszustände, teils aber auf einen ungleich vorgeschrittenen Entwicklungsgrad zurückzuführen geneigt bin.

Das größte Exemplar führt sowohl an der Ansiedelungsstelle wie auch in physiologischer NaCl-Lösung ganz besonders lebhafte Kontraktionen, teils schlangenartige Bewegungen aus, demzufolge es in der Länge beträchtlich variiert. Im Muskelgewebe beträgt die Länge 4—5 cm bei einer durchschnittlichen Breite von 0,8—1,5 mm. Die übrigen Exemplare sind etwas kürzer und schmächtiger. Herr Kollege Rónai hat bei der Auffindung der Larven die Länge bis zu 8 cm messen können, wobei sie fast zwirnartig verschmälert erschienen. In physiol. NaCl-Lösung findet starke Kontraktion statt; ihre Länge beträgt dann nur 2,5—3 cm, die Breite im vorderen Körperdrittel 2,5 mm, rückwärts aber zumeist nur 1—1,5 mm. Ferner konnte ich beobachten, daß Kontraktionen hauptsächlich nur in dem vorderen Viertel oder Fünftel des Wurmes stattfinden (dies sagt auch Stiles [l. c.] für Sp. proliferum), während der mehr glatte, bandförmige Schwanzteil zumeist keine oder nur schwache Umfangsänderungen aufweist.

Den Kontraktionen entsprechend, wechselt mehr oder weniger auch die Körpergestalt. Von den 3 Exemplaren (das 4. war beschädigt, wes-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

halb ich dieses bei der Beschreibung nicht berücksichtige) wies nur das größte die für Plerocercoide schon bekannte typische Gestalt des Kopfendes auf. Diese ist mehr oder minder konisch, mit einer seichten Vertiefung (Einstülpung) an dem ziemlich stumpfen Kopfende (Fig. 1). Die Cuticula ist in Falten gelegt, daher dieses Körperviertel eine Segmentation vortäuschen kann. Daß es sich tatsächlich nur um Kontraktionsfalten handelt, wie es übrigens schon v. Rátz für die von ihm beschriebenen Exemplare betont, zeigt deutlich Fig. 2, die mit stärkerer

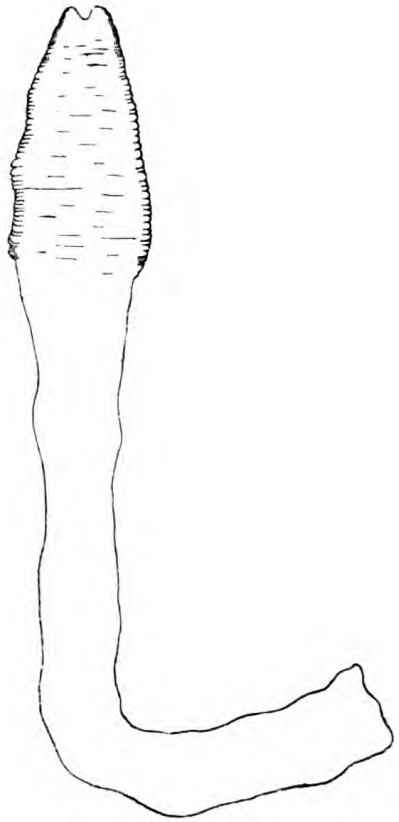


Fig. 1. Dibothrioccphalus Raillieti Rátz. Plerocercoid. × 10.

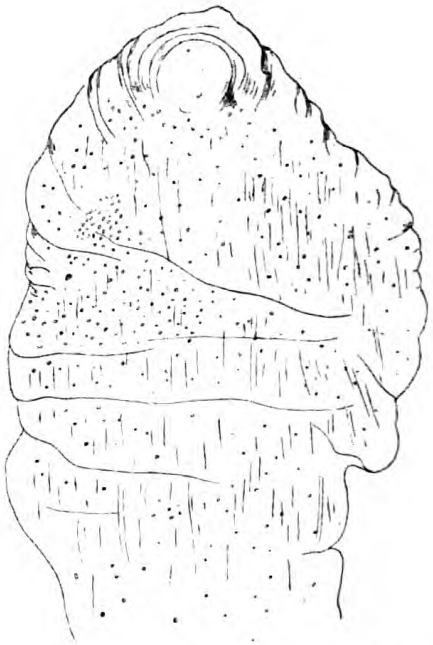


Fig. 2. Dib. Raillieti Rátz. Plerocercoid. Vorderende des in Fig. 1 abgebildeten Exemplars. × 25.

Vergrößerung von demselben, allerdings in einem anderen Kontraktionszustande befindlichen Tiere, mit Reicherts Zeichenapparat skizziert ist.

Das Körperparenchym zeigt besonders im Kopfende dicht angehäufte Kalkkörperchen von rundlicher Gestalt und besonders im Vorderende deutliche Längsmuskelfasern. Diese beiden Elemente sind so zahlreich vorhanden, daß ich, da die Exemplare nicht aufgehellt wurden, die von v. Rátz beobachteten Längsgefäße des Exkretionssystems nicht sah.

Die hinteren Partien des Körpers sind in diesem Exemplare wie auch in den übrigen bedeutend schmäler, überall von ungefähr gleicher Breite mit ziemlich glatter Oberfläche und einem fast quer abgeschnittenen Körperende.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die 2 übrigen Würmer weisen, abgesehen von dem etwas schmächtigeren Körperbau, hauptsächlich in der Gestaltung des Kopfendes einen merklichen Unterschied auf. Wie aus Fig. 3 ersichtlich, weicht das 2. Exemplar nur insofern von dem typischen ab, daß das vordere Körperende fast von zylindrischer Gestalt und am Kopfende breit abgestumpft erscheint. Eine Einstülpung ist jedoch auch hier in der typischen Form sichtbar. Eine bis zu einem gewissen Grade als ungewohnt zu bezeichnende Gestaltung des Kopfendes ist in den Fig. 4 u. 5 veranschaulicht (3. Exemplar). In Fig. 4 fällt zunächst die eigentümlich abgerundet und abgesetzt erscheinende Gestalt des Kopfendes auf. Diese

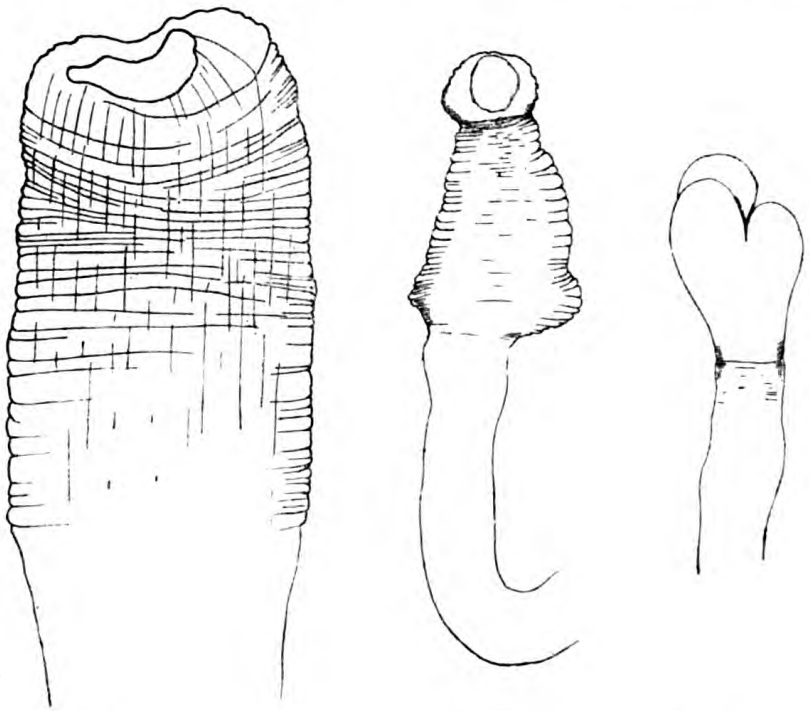


Fig. 3. Fig. 4. Fig. 5.

Fig. 3. Dib. Raillieti Rátz. Plerocercoid. 2. Exemplar. Vorderende $\times$20.
Fig. 4 u. 5. Dib. Raillieti Rátz. Plerocercoid. 3. Exemplar. Vorderende. $\times$10.

erinnert ungefähr an die eines Cyclophyllidenskolex, wobei man sogar gewisse Cuticularsäume wahrzunehmen glaubt, die einem Saugnapfe nicht unähnlich aussehen. In Wirklichkeit sind es aber nur Faltenbildungen, deren Deutung allerdings nicht leicht ist, ganz besonders, da ich die betreffenden Exemplare zwecks Erhaltung für den Tierversuch in keinerlei Aufhellungsmittel bringen wollte. Daß diese merkwürdigen Gestaltungen bloß auf Kontraktionszustände zurückzuführen sind, zeigt Fig. 5, gezeichnet nach demselben Exemplare und in derselben Flächenlage wie Fig. 4. Hier jedoch ist der in Fig. 4 in Falten gelegte Vorderteil viel kürzer, die Cuticula ganz glatt und das Vorderende aller Wahrscheinlichkeit nach infolge der übermäßigen Einstülpung des Skolexendes ungleichmäßig aufgebaucht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Strukturen, die morphologisch einem Bothriocephalidenskolex entsprechen würden, konnten nicht wahrgenommen werden, allerdings war bei diesen Exemplaren eine Ausstülpung des Kopfendes nicht beobachtet. Inwieweit ein Skolex bei den zu Sparganum gerechneten Larvenformen entwickelt ist, muß in Zukunft festgestellt werden. Stiles (30) gibt in der Diagnose für Sp. proliferum diesbezüglich folgende Beschreibung: „Head narrower and more motile than posterior end and may show an apical depression which, perhaps, serves as sucker; no true suckers or other organs of attachment present."

v. Rátz (27) spricht von einem „Kopf, der zumeist eingestülpt ist". An einem Exemplare konnte er „an beiden Seiten des Kopfes je einen seichten, in die Länge ziehenden Einschnitt sehen, der an die Bothridien des Bothriocephalus latus erinnert".

Bei einer Anzahl von Bothriocephalidenfinnen (Plerocercoiden) ist ein teilweise oder vollständig entwickelter Skolex bekannt [z. B. D. latus; vgl. auch Zschokke (31)], der auch eingestülpt sein kann.

Wie aus den angeführten kurzen Angaben ersichtlich, sind die hier beschriebenen Plerocercoide den von v. Rátz als Sp. Raillieti beschriebenen ähnlich, wenn auch gewisse Unterschiede in Gestalt und Größe zweifellos bestehen. Diese Unterschiede sind aller Wahrscheinlichkeit nach auf den verschiedenen Entwicklungsgrad der jeweilig angetroffenen Larven zurückzuführen, da die Körpergestalt bekanntlich auch bei Sp. Mansoni und besonders bei Sp. proliferum je nach dem Entwicklungsgrade ziemliche Variationen aufweist. Bis zu einem gewissen Grade dürfte auch der Kontraktionszustand hier eine Rolle spielen. Bei den v. Rátzschen Exemplaren, wie dies aus den Figuren zu entnehmen ist, erscheint der ganze Wurm von ziemlich gleichmäßig breiter, bandförmiger Gestalt, wogegen meine Exemplare ein etwas verbreitertes, in Falten gelegtes Vorderende aufweisen. Wie gesagt, halte ich diesen Unterschied, da er zweifellos aus den oben angeführten Umständen hervorgeht, nicht als einen solchen, auf Grund dessen die Trennung der von v. Rátz und von mir beschriebenen Formen angezeigt wäre. Ich möchte jedoch bei dieser Gelegenheit erwähnen, daß Henry und Bauche (12) gelegentlich der Identifizierung ihrer, aus einem annamesischen Schweine stammenden Plerocercoiden mit Sp. Raillieti, ein Merkmal für die Form aus Annam als besonders charakteristisch hervorheben, indem sie sagen: „Entre autres caractères qui differencient les deux types, on peut noter pour le parasite hongrois l'absence de renflement spatulé à l'extrémité antérieure, renflement qui nous a paru très caractéristique du Sparganum de l'Annam." Ich glaube nun, daß es sich um Verhältnisse handelt, wie solche auch bei meinen Exemplaren, wenigstens bis zu einem gewissen Grade, vorkommen. Uebrigens bin ich der Ansicht, daß es kaum möglich ist, die bisher bekannt gewordenen Sparganum-Arten, mit Ausnahme von Sp. proliferum, bloß auf Grund äußerer Merkmale auseinander zu halten. Hierfür spricht schon die Unsicherheit in der Benennung von Exemplaren, die in einem neuen Wirte gefunden wurden oder einfach deren Identifizierung mit einer schon bekannten Form. So z. B. soll Sp. Mansoni nicht nur beim Menschen, sondern von Sonsino auch in einem Schakal [vgl. Castellani and Chalmers (7)] angetroffen worden sein. Ferner fand Sugimoto [vgl. Yoshida (32)] diese Larven in Formosa im Schwein und beschreibt sie als Bothriocephalus liguloides, gibt aber auch an, daß sie mit Sp. Raillieti wahrscheinlich identisch sind. Sp. Bax-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

teri, das sich morphologisch, den Figuren nach zu urteilen, von Sp. Mansoni kaum unterscheiden läßt [Brumpt (6) führt es auch als solches an], soll auch in einer Schlange gefunden worden sein, ebenso wie auch das sonst nur beim Menschen angetroffene Sp. proliferum. Dasselbe gilt aber bekanntlich im allgemeinen auch hinsichtlich der übrigen Bothriocephalidenlarven (Plerocercoide) [vgl. Lühe (18) S. 12].

Fütterungsversuche.

Von den am 1. März erhaltenen Plerocercoiden wurden 2 Stück — hierunter auch das größte, lebhaft bewegliche Exemplar — am 2. März an einen 5 Mon. alten Hund verfüttert. Ein Exemplar hat Verf. selbst, in einem gekochten Fleischstück gewickelt, eingenommen.

Die Fäzes des vorher parasitenfrei befundenen Hundes wurden täglich auf Wurmeier untersucht. Am 21. März, also 19 Tage nach der Verfütterung, konnten die ersten gedeckelten Eier in den Fäzes des Hundes festgestellt werden. Ihre Zahl wuchs sichtlich von Tag zu Tag und erreichte am 10. April die Höchstzahl von ungefähr 5—8 Eiern pro Gesichtsfeld. In den nächsten Tagen verminderte sich die Zahl plötzlich so auffallend, daß ich an eine spontane Entleerung des Wurmes denken mußte, umsomehr, da ich am 40.—41. Tage nach der Infektion nur vereinzelte Eier und auch diese erst nach längerer Durchsicht des Präparates auffinden konnte. Hierauf wurde das Versuchstier am 15. April getötet. In dem letzten Drittel des Ileums konnte ein ca. 52 cm langer, mit dem Skolex der Darmschleimhaut anhaftender Bothriocephalide aufgefunden werden. Irgendwelche Mazerationserscheinungen, die die plötzliche Verminderung der Eierzahl erklärt hätten, waren nicht vorhanden. Die ganze Kette schien unversehrt und wohlerhalten. Der Wurm wurde hierauf in heißem Sublimatalkohol fixiert.

Die Autoinfektion fiel negativ aus. In den Fäzes konnten auch nach 5 Mon. keine Eier konstatiert werden.

Das geschlechtsreife Stadium.

Bei der Herausnahme und Uebertragung in physiol. NaCl-Lösung bekundete der im Darmkanal des Versuchstieres angetroffene Wurm sehr lebhafte Kontraktionsbewegungen, denen zufolge das Längenmaß des Tieres beträchtlich schwankte. Annähernd konnte jedoch die Länge mit 52 cm festgestellt werden. Nach der Fixierung in heißem Sublimatalkohol erfuhr die ganze Kette infolge ziemlich starker Kontraktion eine bedeutende Verkürzung, so daß die totale Länge des abgetöteten Wurmes 45 cm beträgt.

Der Skolex ist von der Seite betrachtet lanzettförmig, 0,85 mm lang und 0,51 mm breit. An beiden Flächen, also sowohl ventral wie dorsal, ist in der Mittellinie je eine Längsfurche sichtbar, die durch die ganze Länge des Skolex zieht und deutlich den bei Dibothriocephalus bekannten Bothridien entspricht; die Ränder der Sauggruben sind aufgerichtet und somit kann die Form der Sauggruben nicht entsprechend angegeben werden.

Hinter dem Skolex folgt ein ca. 12 mm langer unsegmentierter Kettenteil, der sogenannte Hals, der vorne, also an seiner schmalsten Stelle, 0,3 mm, hinten aber, d. h. eine kurze Strecke bevor die ersten Spuren einer Segmentierung wahrnehmbar werden, 0,8 mm mißt. Die Gliederung ist anfangs nur schwach angedeutet, doch wird sie bald auch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit bloßem Auge gut sichtbar. Alle Glieder, die hintersten nicht ausgenommen, sind um das Vielfache breiter als lang. Das Verhältnis zwischen Proglottislänge und -breite ist ein zugunsten der Länge allmählich steigendes, und zwar ist es anfangs wie 1 : 12, ungefähr in der Mitte der ganzen Kette wie 1 : 9 und in den hinteren Gliedern wie 1 : 4,5. Die größte Breite wird mit 9 mm etwa in der Mitte der Strobila erreicht. Die Länge beträgt hier etwa 1 mm. Die hinteren Glieder messen 7 mm in der Breite und 1,5 mm in der Länge. Die Zahl der mit freiem Auge unterscheidbaren Proglottiden beträgt ungefähr 400; mit Hilfe einer stärkeren Lupe oder des Binokularmikroskopes kann annähernd das Doppelte dieser Zahl festgestellt werden.

Die Farbe des lebenden Tieres ist grauweiß, mit einem Stich ins Gelbe. An der ventralen Fläche zieht entlang der Längsachse der Glieder eine, aus rundlichen Erhöhungen gebildete Linie; es sind dies, wie besonders mit dem Binokularmikroskop deutlich sichtbar, die Geschlechtskloake und die Uterinöffnung führenden Teile der Glieder. Am vorderen Rande eines jeden Hügels liegt das mit ziemlich erhabenen Rändern umgebene Genitalatrium, aus welchem vorne ein kurzer, verhältnismäßig plumper Cirrus hervorragt und hinter welchem ein halbmondförmiger Querspalt, die Vulva, sichtbar ist. Etwa 0,2 mm hinter dem Atrium liegt ein 2. Querspalt, die Uterinöffnung. Die Farbe der Uterusrosette tritt durch die infolge der Kontraktion etwas verdickte Rinden- und Subcuticularschicht sowie Cuticula nur schwach hervor. Bei durchscheinendem Lichte ist der Uterus als ein unregelmäßig rundlicher, brauner Fleck sichtbar. An beiden Seiten der ventralen Gliedfläche, etwa 2,7 mm von dem Gliedrande entfernt, verläuft ebenfalls eine, besonders im hinteren Strobiladrittel deutliche Linie. Anfangs hielt ich diese Linie durch die beiden Hauptlängsgefäße des Exkretionssystems gebildet, auf Querschnitten fand ich jedoch hier nicht die Gefäße, sondern, wie es weiter beschrieben wird, die beiderseitigen, mit zahlreichen Kalkkörperchen umgebenen, großen Nervenstämme.

Anatomie. Die Cuticula weist nichts Besonderes auf; sie ist — allerdings nur in den hintersten Proglottiden gemessen — ca. 0,005 mm dick. Hautmuskulatur ziemlich gut entwickelt, bestehend aus 1—2 Reihen Quermuskeln und einer ca. 0,007 mm breiten Zone von Längsmuskeln. Subcuticularschicht 0,07—0,1 mm breit; die einzelnen spindelförmigen Zellen messen ungefähr 18 μ in der Länge.

Die Parenchymmuskulatur ist deutlich ausgebildet, und zwar bilden die Längsmuskeln in Querschnitten eine ca. 0,08 mm breite Zone von untereinander reichlich anastomosierenden Bündeln bzw. Fasern. Innerhalb dieser Zone liegt die Transversalmuskulatur. Die ziemlich locker angeordneten Muskelbündel und Fasern nehmen einen etwas schmäleren Teil des Rindenparenchyms als die Längsmuskeln ein, doch sind solche auch im Markparenchym deutlich nachweisbar. Dorsoventralmuskulatur durchweg gut ausgebildet.

Kalkkörperchen sind besonders in den vorderen Partien des Wurmes, und zwar sowohl in dem Rinden- wie auch im Markparenchym zahlreich vorhanden. In den reifen Gliedern vermindert sich die Zahl beträchtlich und sie sind dann hauptsächlich um den beiderseitigen Nervenstamm zahlreicher angesammelt. Hier erreichen sie die Größe von ca. 20—27 μ.

Das Exkretionssystem scheint von jenem des D. latus und auch anderer D.-Arten beträchtlich abzuweichen. Leider konnte ich, wegen des spärlichen Materials, das ich womöglich schonen wollte, über die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verhältnisse dieses Systems kein vollkommen klares Bild erhalten. Ich hoffe, dies einmal nachzuholen. Abweichend von den bei Dibothriocephalus-Arten bekannten Verhältnissen, finde ich in Querschnitten 3—4 innere Längsgefäße in jedem Seitenfelde; diese sind auch in Sagittalschnitten gut zu verfolgen, und zwar liegt eines zwischen den Keimstockfollikeln, ein zweites zwischen Keimstock und Nervenstamm und 1—2 weitere noch bis zum Gliedrande. In manchen Querschnitten sieht man deutlich, daß die einzelnen Längsstämme teilweise miteinander durch entsprechend weite Kanäle verbunden sind. aus welchen seitwärts engere Kanälchen abzweigen und scheinbar zwischen die Längsmuskeln dringen. Wahrscheinlich ist das innere Gefäßsystem in den vordersten Gliedern noch stärker entwickelt, da ich in den letzten Gliedern, abweichend von den in mittleren Gliedern festgestellten Verhältnissen, nur noch 2 – 3 Längsgefäße finde, deren Lumen auch bedeutend enger ist. Ein peripheres Exkretionssystem scheint — soweit ich aus Schnittserien der mittleren und letzten Gliedern entnehmen kann — zu fehlen. Möglicherweise wird die Funktion dieses Systems ebenfalls durch das reich entwickelte innere System übernommen.

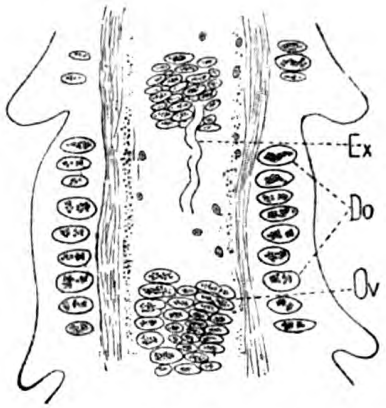


Fig. 6. Dib. Raillieti Rátz. Sagittalschnitt durch ein geschlechtsreifes Glied (medianes Ende des Seitenfeldes). *Do* Dotterstock, *Ex* Längsgefäß, *Ov* Keimstock. × 42.

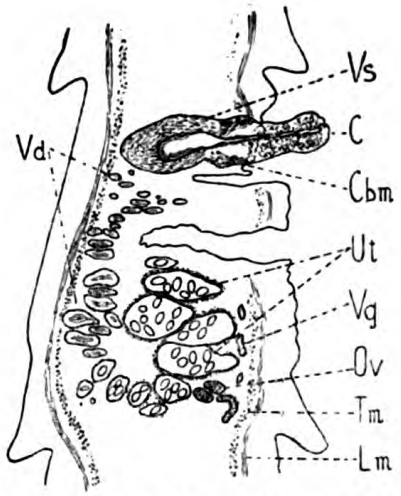


Fig. 7. Dib. Raillieti Rátz. Sagittalschnitt durch ein geschlechtsreifes Glied (median). *C* Cirrus, *Cbm* Cirrusbeutelmuskulatur, *Lm* Längsmuskulatur, *Ov* Keimstock, *Tm* Transversalmuskulatur, *Ut* Uterus, *Vd* Vas deferens, *Vg* Vagina, *Vs* Samenblase. 30 ×.

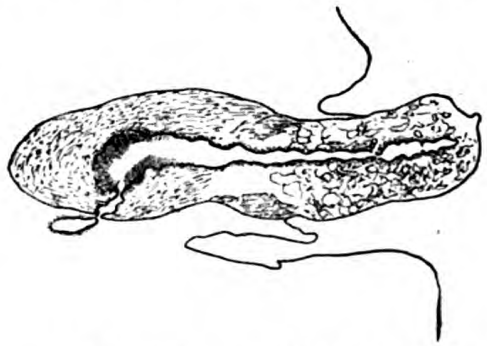


Fig. 8. Dib. Raillieti Rátz. Cirrusapparat. Cirrus ausgestülpt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In jedem Seitenfelde der Glieder, ca. 2,5—2,7 mm von dem Gliedrande, verläuft je ein starker Nervenstamm von ca. 0,08 mm Durchmesser.

Die Entwicklung der Geschlechtsorgane geht ziemlich rasch vor sich. Schon auf etwa 10 cm hinter dem Skolex treffen wir die Geschlechtsdrüsen in funktionsfähigem Zustande an. Der Uterus beherbergt ca. 15 cm hinter dem Skolex reife Eier.

In jedem Seitenfelde sind im Querschnitt ca. 15—17 kugelige oder rundovale Hoden von $135 \times 164\ \mu$ Durchmesser vorhanden. In Sagittalschnitten beträgt deren Zahl ca. 10—14, so daß die Gesamtzahl auf etwa 300—500 zu stellen ist. In dem Mittelfelde kommen sie nicht vor. Das Vas deferens verläuft, infolge der ziemlich starken Kontraktion der Glieder, etwas geschlängelt, dorsal. Vorne mündet es in die bei Dibothriocephalus oft besprochene Samenblase, welche jedoch, sowohl was Lage wie auch gewissermaßen Größe und Gestalt anbelangt, von jener des D. latus abweicht. Trotzdem Lühe (16) sagt, „die Form und Größe des Organs ist außerordentlich wechselnd, je nach dem Kontraktionszustande“ (S. 211), glaube ich doch nicht annehmen zu können, daß die diesbezüglichen Verhältnisse nur eine aus Kontraktion resultierende Abweichung gegenüber jenen bei D. latus bekannten, darstellen. Bei ausgestülptem Cirrus ist die sehr muskulöse Samenblase von ovaler Gestalt, ca. 0,4 mm lang und 0,2 mm dick. An ihrem, dem Vas deferens zugekehrten Ende ist sie abgerundet, ihr Vorderende aber geht nach einer schwachen Einschnürung in den Cirrusapparat über, so daß, wie Fig. 8 veranschaulicht, Samenblase + Cirrus den Eindruck eines einheitlichen Organs machen, dessen vordere Hälfte das eigentliche Kopulationsorgan (Cirrus) ist, die hintere Hälfte aber ein die Ejakulation förderndes, sehr muskulöses Samenreservoir darstellt. Der durch beide Hälften durchziehende Kanal — Ductus ejaculatorius — verläuft in diesem Zustande des Cirrusapparates ganz ausgestreckt, in gerader Linie. An seiner Ausgangsstelle, in der hinteren Hälfte der Samenblase, ist dieser Kanal ziemlich erweitert und mit einem hohen Wimperbelag ausgekleidet. Der ausgestülpte Cirrus ist von zylindrischer Gestalt, 0,4 mm lang, 0,16 mm dick, an seinem Vorderende stumpf abgerundet oder sogar keulenförmig verdickt. Im Quer- oder Sagittalschnitt beobachtet, besteht er aus einem feinen retikulären Gewebe, worin auch zahlreiche Muskelfasern verlaufen. Nur an der Stelle, wo Cirrus und Samenblase verschmelzen, ist eine stärkere Muskelhülle, als Basis des Cirrus (Cirrusbeutel) sichtbar. Bei halb ausgestülptem Cirrus erscheint die Samen-

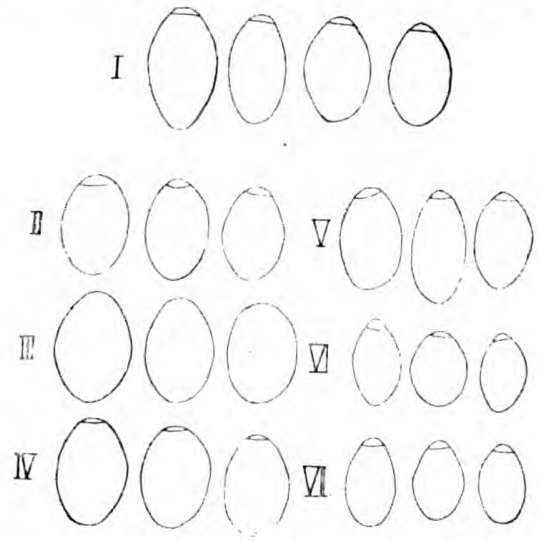


Fig. 9. Eier von Dib. Raillieti (*I*), D. latus [aus Canis fam. (*II* und *III*), Procyon lotor (*IV*), Felis catus dom. (*V*] und D. sp. aus Felis tigris (*VI*), Felis sp. (*VII*). $\times$ 110.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

blase mehr abgerundet, sie nähert sich der Kugelform, befindet sich jedoch noch immer in derselben Transversalebene wie der Cirrusbeutel bzw. Cirrus selbst. Der Ejakulationskanal ist geschlängelt, die Cirrusbeutelmuskulatur kompakter. Eine ganz ähnliche Lage nimmt die Samenblase auch dann ein, wenn der Cirrusapparat in dem sogenannten „Ruhestadium" [vgl. Nybelin (22), S. 46—49] sich befindet.

Die weiblichen Organe sind im allgemeinen nach dem bei D. latus bekannten Typus aufgebaut. Dies trifft auch auf den, makroskopisch scheinbar abweichenden, Uterus zu. In Sagittalschnitten sind in reiferen Gliedern hinter der gewöhnlich median liegenden Uterinöffnung ca. 6 größere, mit Eiern gefüllte Säcke von ca. 0,3—0,4 mm Durchmesser sichtbar, die etwas ventral verschoben liegen. Am hinteren Ende der Glieder trifft man kleinere, das ganze dorsoventrale Markparenchym des Mittelfeldes ausfüllende, zahlreichere Säcke an. Die Wandungen der Uterusschlingen sind, besonders in den vorderen Partien, mit 3 bis 4 Reihen ziemlich großer, nicht selten spindelförmiger Zellen umgeben. Die gedeckelten Eier sind von ovaler Gestalt, gewöhnlich 67 × 40 bis 72 × 54 μ groß; ausnahmsweise werden jedoch auch etwas kleinere oder aber noch größere angetroffen. Sie stimmen demnach mit den Eiern von D. latus ziemlich gut überein (vgl. Fig. 9), wie auch aus folgender Zusammenstellung (I—V) ersichtlich ist:

	Eier aus:	Länge × Breite der Eier in μ	durchschnittlich
I.	D. Raillieti	62 × 37, 64 × 40, 67 × 40, 70 × 37, 70 × 40, 70 × 45, 72 × 54	**68 × 42** μ
II.	D. latus aus Canis fam.	67 × 48, 67 × 51, 67 × 54, 70 × 48, 70 × 51, 72 × 48, 72 × 51	**69 × 50** „
III.	Wie II. (ein anderes Exemplar)	67 × 45, 67 × 51, 70 × 45, 70 × 48, 72 × 51, 72 × 54, 75 × 51	**70 × 49** „
IV.	D. latus aus Procyon	62 × 48, 64 × 48, 64 × 54, 67 × 48, 67 × 51, 70 × 51, 72 × 51	**67 × 50** „
V.	D. latus aus Felis catus dom.	67 × 37, 67 × 40, 67 × 43, 70 × 40, 70 × 43, 72 × 40, 75 × 40	**70 × 40** „
VI.	D. sp.? aus Felis tigris	56 × 35, 56 × 37, 59 × 37, 59 × 40, 62 × 35, 62 × 37, 64 × 35	**59 × 36** „
VII.	D. sp.? aus Felis sp.?	54 × 21, 54 × 37, 56 × 35, 59 × 32, 59 × 35, 62 × 37, 67 × 37	**59 × 33** „

Im Zusammenhange mit diesen Angaben möchte ich gleich bemerken, daß es kaum zutreffend ist, wenn Yoshida (l. c. S. 175) behauptet: „Measurements show that there is a great variation of egg size in Dib. latus according to the species of the host, whether human or other animal. The eggs of Dib. latus from other animals are the same in shape but much smaller than those from the human host." Braun (5) gibt für die Eier des D. latus aus dem Menschen eine Länge von 68—71 μ und Breite von 45 μ an. Diese Zahlen stimmen jedoch ziemlich gut mit den für D. latus aus verschiedenen tierischen Wirten von mir angegebenen Werten überein.

Die übrigen Organe unseres Wurmes weisen nichts Besonderes auf, weshalb ich deren Beschreibung hier unterlasse und auf die betreffenden Abbildungen hinweise.

Mit Rücksicht darauf, daß der den beschriebenen Bothriocephaliden beherbergende Versuchshund wenige Minuten nach der Tötung untersucht wurde, dürfte ein kurzer Hinweis auf die Lage des Wurmes in dem Darmkanal von Interesse sein, da aus derselben möglicherweise Folgerungen über die Begattungsfrage bei Bothriocephaliden gezogen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

werden könnten. Der, wie schon erwähnt, ca. 52 cm lange Wurm nahm einen höchstens 15 cm langen Darmteil ein, und zwar in der Weise, daß mehrere, etwa 5—10 cm lange Kettenteile zurückgeschlagen aufeinander gelegen waren; die einander anliegenden Kettenteile waren verhältnismäßig zähe verkittet und wichen nur nach der behutsamen Uebertragung in die Kochsalzlösung, auf die hier eintretenden starken Kontraktionen auseinander. Ich nehme daher an, daß diese Lage der Strobila bei dieser D.-Art die einzige Möglichkeit der Befruchtung durch gegenseitige Kopulation (mit immissio cirri) gibt, da eine Selbstbegattung der Glieder durch Autokopulation, wie dies Moniez (19) entgegen der Ansicht von Sommer und Landois (29) bei D. latus für nicht unmöglich hält, hier schon wegen der ziemlichen Plumpheit und Kürze des ausgestülpten Cirrus undenkbar erscheint.

Wenn wir nun auf Grund der kurzgefaßten Beschreibung des in Rede stehenden Wurmes einen Vergleich mit den aus karnivoren Säugetieren und dem Menschen bisher bekannten Dibothriocephalus-Arten anstellen wollen, so kommen folgende Arten in Betracht: D. latus (L.), D. cordatus (R. Leuck.), D. Mansoni (Cobb.), D. fuscus (Krabbe), D. serratus[1]) (Dies.), D. decipiens[2]) (Dies.), D. maculatus (R. Leuck.), D. sulcatus (Mol.), D. similis (Krabbe), D. parvus Stephens und D. americanus (Hall.). Ich will hier gleich bemerken, daß die anatomischen Verhältnisse der meisten angeführten Arten, mit Ausnahme von D. latus, kaum eingehender behandelt wurden und man hauptsächlich auf die nicht immer ausführlich geschilderten morphologischen Merkmale der einzelnen Spezies angewiesen ist, welcher Umstand jedoch a priori eine gewisse Unsicherheit in der Identifizierung der Arten mit sich bringt, wenn man annimmt, daß z. B. die Gestalt und Größe des Kopfes und der Glieder von D. latus sehr wechselt [Böttcher (3), Leuckart (14)], ferner daß, wie Braun (4), Railliet (23), Moniez (20) und andere Autoren behaupten, diese Art in der Katze und dem Hunde zur Entwicklung gelangend gewöhnlich eine viel kürzere Strobila, geringere Gliederzahl, kleineren Skolex usw. besitzt. Wenn man noch einen verschiedenen Kontraktionszustand, verschiedene Konservierungsmethoden hinzunimmt, denen zufolge einzelne Wurmketten ein und derselben Art äußerlich beträchtliche Unterschiede aufweisen können, so muß zugegeben werden, daß eine richtige Bestimmung der aus Säugetieren stammenden Bothriocephaliden manche Schwierigkeiten bereitet und entsprechendes Vergleichsmaterial erwünscht.

Von den angeführten Arten können auf Grund von äußeren Merkmalen folgende ausgeschieden werden, und zwar auf Grund der Gestalt des Skolex: D. cordatus, auf Grund des fehlenden oder sehr kurzen Halses: D. fuscus, D. americanus, D. maculatus, auf Grund der Dimensionen der Glieder[3]): D. sulcatus (nur 6 mm breit),

1) Der in Neveu-Lemaire (21) angeführte B. spiratus dürfte, wie Hall (11) meint, ein durch Druckfehler entstandener Name, anstatt „serratus" sein.

2) Lühe (17) unterscheidet außer dieser Art auch D. felis (Crepl.). Letztere Art wird jedoch nunmehr allgemein als synonym zu D. decipiens aufgefaßt; ob mit Recht, ist allerdings nicht einwandfrei festgestellt.

3) Die Größenmaße der Bothriocephalidenglieder weisen bis zu gewissen Grenzen eine ziemliche Konstanz auf. Es sind jedoch auch hier zuweilen beträchtliche Differenzen bei Gliedern von verschiedenen Individuen einer und derselben Art zu berücksichtigen. So hat z. B. Böhm (2) bei einem ca 55 cm langen D. decipiens als größte Breite nur 4 mm gefunden. Deffke (9) fand von 7 Exemplaren D. latus aus dem Hund 3 Exemplare 3,5—4 m lang und 12 mm breit, 3 Exemplare 3 m lang, 6 bis 8 mm breit, und 1 Exemplar 1,5 m lang und 4,5 mm breit!

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

D. maculatus (6 mm), D. serratus (bis 20 mm), D. similis 5 mm), D. parvus (5 mm). Auch ist nebst anderen Merkmalen die Größe und Gestalt der Eier bei den soeben angeführten Arten abweichend. Somit bleiben noch D. latus, D. Mansoni und D. decipiens, mit denen unser Wurm verglichen werden muß.

D. decipiens (Dies.) ist ein Parasit von verschiedenen Feliden, wurde aber auch im Hunde angetroffen [vgl. Böhm (2)]. Die von Ariola (1) angegebenen Merkmale, namentlich die Größe des Skolex (3×1 mm), die Größe der Eier (50—60 μ), weichen beträchlich von jenen des in Rede stehenden Wurmes ab, weshalb ich annehme, daß unser Wurm nichts mit dieser Art zu tun hat.

Das geschlechtsreife Stadium des D. Mansoni wurde von Yoshida und seinem Mitarbeiter Yamada durch Verfütterung der Mansonschen Plerocercoide an einen Hund gezüchtet. Yoshida (32) weist in seiner Arbeit auf die große Aehnlichkeit dieses Wurmes mit D. latus hin, von dem man ihn hauptsächlich auf Grund der abweichenden Gestalt der Eier unterscheiden kann. Obzwar Yoshida D. Mansoni nicht näher beschreibt, glaube ich doch auf Grund der abweichenden Gestalt der Eier (vgl. Yoshidas Figuren mit meiner Figur 9, I) meinen Wurm auch von dieser Art unterscheiden zu können.

Was schließlich D. latus betrifft, so könnte die ziemlich äußere Aehnlichkeit und die Uebereinstimmung einiger anatomischer Merkmale, sowie auch der systematisch meistens gut verwendbaren Eier für eine eventuelle Identität unseres Wurmes mit dieser Art um so eher sprechen, da die bestehenden Unterschiede jenem schon angeführten Umstande zuzuschreiben wären, wonach D. latus in Hunden und Katzen entwickelt, beträchliche äußere Variationen aufweist.

Da die Autoinfektion, die im Falle der Entwicklung des geschlechtsreifen Wurmes, dessen Bestimmung wesentlich erleichtert hätte, erfolglos blieb, mußte ich andere aus dem Hunde und anderen Tieren (Katze, Waschbär) stammende Exemplare des D. latus zum Vergleich heranziehen. Auf Grund dieser Untersuchungen finde ich, daß folgende Merkmale des in Rede stehenden Wurmes mit jenen von D. latus übereinstimmen. Die Gestalt des Skolex, die Länge des Halsteiles, das Verhältnis der Gliedbreite zu der Gliedlänge, die Lage der Geschlechtsöffnungen, die Beschaffenheit der Cuticula, Subcuticula, Muskulatur, die Zahl und Lagerung der Hoden, die Struktur des Vas deferens, der weiblichen Organe, die Größe und Gestalt der Eier.

Eine mehr oder weniger ausgesprochene Abweichung weisen auf: die Größe des Skolex, die Strobilalänge, Gliederzahl, Breite der Glieder, Verteilung der Kalkkörperchen, der Exkretionsapparat, die Struktur des Cirrusapparates samt der Samenblase.

Es kann mit großer Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß Skolexgröße und -Form [vgl. Fuhrmann (10), S. 474], Strobilalänge und -breite, Verteilung der Kalkkörperchen usw. zum Teil mit dem Alter bzw. Entwicklungsgrad des Wurmes im Zusammenhange stehen, also individuell variieren können, und es darf somit diese Differenz nicht allzu hoch bewertet werden. Eben aus diesem Grunde kann ich auch der auffallenden Differenz hinsichtlich der Skolexgröße unseres Wurmes vorläufig keinen besonderen Wert als Artcharakter beimessen. (Der Skolex des D. latus aus dem Menschen ist nach Braun (5) 2—3 mm lang; bei zwei aus dem Hund stammenden Exemplaren fand ich ihn 1,5 bzw. 2,3 mm lang.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezüglich des Exkretionssystems, sowie im Aufbau des Cirrusapparates scheint jedoch dieser Wurm ausgesprochene Unterschiede gegenüber D. latus und auch anderen Arten aufzuweisen, so daß es leicht möglich ist, daß auf Grund dieser Merkmale D. Raillieti sich von den bisher bekannten Arten und hauptsächlich von D. latus unterscheiden lassen wird.

In wenigen Worten möchte ich noch der weiteren Versuche gedenken, die zwecks Erforschung des ganzen Entwicklungszyklus des beschriebenen Wurmes eingeleitet, jedoch leider nicht zu Ende geführt wurden.

Aus den Fäzes des Versuchstieres hatte ich nach Angaben von Janicki (13) Eierkulturen angesetzt und bei Zimmertemperatur gehalten. Die Entwicklung der Embryonen ging jedoch sehr langsam vor sich. Erst nach $2^1/_2$ Monaten konnten bei einigen Eiern die Embryonalhaken der Oncosphäre festgestellt werden, worauf auch bald deutliche Bewegungen seitens des Embryos sichtbar wurden. Das Ausschlüpfen der Flimmerlarven verzögerte sich jedoch bis 15. Juli und darüber. Da ich von diesem Zeitpunkt an verhindert war, die Versuche normal weiterzuführen, habe ich einige Eierkulturen mit verschiedenen, aus der Umgebung von Budapest eingesammelten Daphnia und Cyclops-Arten zusammengebracht. Unter diesen waren folgende Arten vertreten: Daphnia longispina, Cyclops viridis, C. fuscus, C. Leuckarti, C. serrulatus und auch einige wenige C. strenuus. Nach 4 Wochen konnte, obwohl die Larven einer größeren Anzahl von Eiern entschlüpft waren, ein Procercoid-Stadium in keinem der angeführten Copepoden nachgewiesen werden. Daphnien wurden über 2 Mon. lang mit Eierkulturen zusammengehalten, ohne daß eine Infektion zustande gekommen ist. Es scheint demnach, daß Daphnien überhaupt nicht, von Cyclopiden aber sehr wahrscheinlich die meisten der oben angeführten als Procercoid-Wirte unseres Wurmes nicht in Frage kommen. Wie es sich diesbezüglich mit C. strenuus verhält, in dem sich ebenso wie in Diaptomus gracilis gemäß den schönen Versuchen von Janicki und Rosen, das Procercoid-Stadium von D. latus entwickelt, kann ich natürlich auf Grund dieser Versuche, worin diese Art nur schwach vertreten war, nicht sagen. Weitere Versuche hoffe ich bei Gelegenheit eines nächsten Plerocercoidenfundes fortführen zu können.

Zum Schluß möchte ich über einen Dibothriocephalus latus (L.) aus einem Waschbär (Procyon lotor) kurz berichten:

Aus dem Dünndarm des genannten, in dem Budapester Zoologischen Garten verendeten Wirtes sammelte ich nebst einer Anzahl von Askariden eine ca. 30 cm lange Kette eines Bothriocephaliden. Der Wurm ist leider unvollständig und dürfte die hintere Hälfte des ganzen Tieres vorstellen. Alle Glieder sind breiter als lang, die größte Breite wird mit 14 mm erreicht. Die äußeren Merkmale deuten auf D. latus hin. Einen sicheren Unterschied gegenüber dieser Art konnte ich auch nach Durchmusterung von Quer- und Sagittalschnitten nicht feststellen. Ganz besonders weisen Körpermuskulatur, Größe, Gestalt und Lage des Cirrusapparates (Samenblase inbegriffen), Hodenzahl, Dotterstock und Uterusschlingen dieselben Verhältnisse wie bei D. latus auf. Da die Gestalt und Größe der Eier ($64 \times 48 - 72 \times 51\ \mu$) ebenfalls zugunsten dieser Art spricht, so glaube ich trotz dem Mangel der vorderen Kettenteile und des Skolex diesen Wurm als D. latus ansprechen zu können.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wann und wo sich der Waschbär infiziert hat, war mir leider nicht möglich einwandfrei festzustellen. Wie mir Kollege Dr. Raitsits, Leiter der ambulatorischen Poliklinik unserer Hochschule, nach Erkundigungen im Zoologischen Garten freundlichst mitteilte, soll das Tier längere Zeit (10 Jahre) hindurch im Besitze des Tiergartens gewesen sein. Ob die Infektion während dieser Zeit durch die Nahrung (zumeist Donaufische) oder schon vorher zustande kam, kann nicht entschieden werden. In Ungarn wurden Fischplerocercoide noch nicht gefunden; allerdings beziehen sich die diesbezüglichen Untersuchungen von v. Rátz meistens auf Fische des Balatonsees. Es ist jedoch höchst wahrscheinlich, daß — worauf übrigens schon v. Rátz (25) hinweist — sich nach eingehenden Forschungen Donaufische als mit Plerocercoiden behaftet erweisen werden, da, wie aus der Mitteilung von Ciurea (8) bekannt, an dem Donaudelta dies ein häufiger Fund ist. In letzterem Falle wäre es leicht begreiflich, daß sich der Waschbär mit Fischnahrung während seiner Budapester Gefangenschaft infiziert hat.

Literatur.

1) Ariola, V., Revisione della famiglia Bothriocephalidae s. str. (Arch. de Parasitol. T. 3. 1900.) — 2) Böhm, L. K., Beiträge zur Kenntnis tierischer Parasiten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. S. 407.) — 3) Böttcher, A., Studien über den Bau des B. latus. (Virch. Arch. Bd. 30. 1864.) — 4) Braun, M., Zur Entwicklungsgeschichte des breiten Bandwurmes. Würzburg 1883. — 5) Ders., Die tierischen Parasiten des Menschen. 1. Aufl. 1883; 5. Aufl. 1915. — 6) Brumpt, E., Précis de Parasitologie. Paris 1910. — 7) Castellani and Chalmers, Manual of Tropical Medicine. 1910. — 8) Ciurea, J., Bothriocephalus-Finnen in Hechten und Barschen aus den Teichen der Donaugegend. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. 21. 1911. H. 7.) — 9) Deffke, O., Die Entozoen des Hundes. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. 17.) — 10) Fuhrmann, O., Die Cestoden der deutschen Südpolarexpedition 1901—1903. — 11) Hall, M. C., A Bothriocephalid tapeworm from the dog in North America, with notes on Cestode parasites of dogs. (Journ. Am. Vet. Med. Ass. Vol. 53. p. 355. — 12) Henry et Bauche, Sur les Sparganum du Porc. (Bull. Soc. Centr. de Méd. Vét. 1914. 31. Janvier.) — 13) Janicki, C., Experimentelle Untersuchungen zur Entwicklung von Dibothriocephalus latus L. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. S. 443.) — 14) Leuckart, R., Die tierischen Parasiten des Menschen und die von ihnen herrührenden Krankheiten. 2. Aufl. Bd. 1. 1886. — 15) Ders., Zur Bothriocephalus-Frage. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 1. 1887. S. 39.) — 16) Lühe, M., Beiträge zur Kenntnis der Bothriocephaliden. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 27. S. 209.) — 17) Ders., Zur Anatomie und Systematik der Bothriocephaliden. (Verh. Dtsch. Zool. Ges. 1899. S. 47.) — 18) Ders., Parasitische Plattwürmer. II. Cestodes. (In: Süßwasserfauna Deutschlands, herausg. v. A. Brauer. H. 18. Jena 1910.) — 19) Moniez, R., Mémoires sur les Cestodes I. Paris 1881. — 20) Ders., Traité de Parasitologie animale et végétale appliquée à la médecine. Paris 1896. — 21) Neveu-Lemaire, Parasitologie des animaux domestiques. Paris 1912. — 22) Nybelin, Anatomisch-systematische Studien über Pseudophyllideen. Göteborg 1922. — 23) Railliet, A., Traité de Zoologie médicale et agricole. Paris 1895. — 24) Railliet, A., et Henry, A., Helminthes du porc recueillis par M. Bauche en Annam. (Bull. Soc. path. exot. T. 4. 1911. p. 694.) — 25) Rátz, St. v., Dibothriocephalus latus im Hunde. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1904. S. 384.) — 26) Ders., Une larve plérocercoïde du porc. (Ier Congrès internat. de pathol. comparée.) Paris 1912. — 27) Ders., Ein Plerocercoid von dem Schwein. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913.) — 28) Ders., Uj Sparganumfaj. (Állattani közlem. XV. K. 1916.) — 29) Sommer und Landois, Beiträge zur Anatomie der Plattwürmer. H. 1. Ueber den Bau der geschlechtsreifen Glieder von Bothriocephalus latus Bremser. 1872. — 30) Stiles, Ch. W., The occurrence of a proliferating Cestode larva (Sparganum proliferum) in Man in Florida. (Hyg. Lab. Bull. Nr. 40. 1908. p. 7.) — 31) Zschokke, F., Ueber Bothriocephalenlarven in Trutta salar. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. S. 393. — 32) Yoshida, S., The occurrence of Bothriocephalus liguloides Leuckart, with especial reference to its development. (Journ. of Parasitol. Vol. 3. 1917. p. 171.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Zur Wasserbegutachtung und zur Coli-Biologie.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.]

Von Prof. Dr. **G. Salus** und med. cand. **Georg Hirn.**

Die Wahl der Hilfsmittel für die Trinkwassserprüfung hat in den letzten Jahrzehnten manche Wandlung erfahren, an sich ein Zeichen der Schwierigkeit dieser Aufgabe. Die Chemie konnte zur Entscheidung der Frage, ob ein Wasser einwandfrei sei oder nicht, nur einen bescheidenen Beitrag liefern; chemische Gifte, wie Blei, sind in den seltensten Fällen Ursache der Beanstandung einer Wasserspende; die chemische Zusammensetzung des Trinkwassers erwies sich in ihren Faktoren wechselnd je nach den geologischen Verhältnissen. Nur wenige Stoffe konnten als Indikatoren für Verunreinigung und mangelhafte Filtrationskraft des Bodens verwertet werden und so einen nur indirekten Behelf für die Begutachtung liefern, dies um so mehr, als die Krankheitserreger, welche durch Trinkwasser verbreitet werden, ganz gewöhnlich einen anderen, kürzeren Weg zum Wasser nehmen als jene Produkte der Zersetzung organischer Substanzen, bzw. menschlicher oder tierischer Abfallstoffe. Die auf die Bakteriologie gesetzte Hoffnung, daß der Nachweis der Krankheitserreger selbst, den wir in den Ausscheidungen der Kranken gut zu führen vermögen, auch in den Wässern, in welche diese Abgänge gelangen, mit leichter Mühe zu erbringen sein werde, hat namentlich bezüglich des in erster Reihe in Betracht kommenden Typhusbazillus bald enttäuscht. Nur in vereinzelten, besonders günstig liegenden Fällen und mit dem Aufwande komplizierter Methoden gelang diese Ermittlung, während sie in der großen Ueberzahl der Fälle versagte. Naheliegende Hemmnisse, wie die starke Verdünnung der Ausscheidungen im Wasser, Mangel der für die pathogenen Keime nötigen Nährstoffe, Fehlen geeigneter Anreicherungsverfahren, Saprophytenkonkurrenz usw. werden für diesen Mißerfolg verantwortlich gemacht, doch dürften noch andere, heute nicht ausreichend erforschte Ursachen (Bakteriophagen, Aenderung der Wuchsform des Erregers) mitwirken. Man sah sich daher genötigt, ein strengeres Verfahren einzuschlagen und die hygienische Unzulässigkeit einer Wasserspende, statt von der erwiesenen Infektion vom festgestellten Infektionsverdacht abzuleiten (Hueppe). Dieser ist überall dort genügend gestützt, wo die Beimengung von Abfallstoffen des menschlichen Haushalts ersichtlich ist. Diese Art der Beurteilung ist zwar auch nur ein Notbehelf, der über sichere Beimengung von pathogenen Keimen nichts aussagt, aber doch zweifellos die Gefahr einer solchen anzeigt, da er beweist, daß auch die pathogenen Mikroben den Weg zum Wasser vorbereitet finden. Mit Recht steht also gegenwärtig der Nachweis der „fäkalen Verunreinigung“ im Vordergrund, während die bloße Keimzählung viel an Bedeutung verloren hat, wenn sei auch ebensowenig als die chemische Analyse wertlos geworden ist.

Für den Nachweis fäkaler Verunreinigung stehen theoretisch mehrere Wege offen. Charakteristische chemische Bestandteile menschlicher oder

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tierischer Darmabgänge nachweisen zu wollen, ist bei der starken Verdünnung derselben im Wasser nahezu aussichtslos, und der Befund von Harnindikan nach Jolles würde bestenfalls auch nur die Harninfiltration des Bodens beweisen, die der hohe Chlorgehalt leicht und deutlich zeigt; morphologische Bestandteile, wie quergestreifte Fleischfasern oder Wurmeier, werden in den Lehrbüchern immer angeführt, haben aber praktisch nur Raritätswert. Dagegen ist ein wichtiges Hilfsmittel im „Lokalaugenschein" gegeben, der besonders unter ländlichen Verhältnissen häufig kurzerhand die Spuren des Einlaufs verdächtiger Schmutzwässer in den Brunnen, grobe Mängel der Brunnenanlage, drohende Verunreinigung aus der Umgebung vor Augen führt. Angesehene Autoren haben, offenbar unzufrieden mit den Ergebnissen komplizierter chemischer und bakteriologischer Methoden, den Standpunkt eingenommen, daß der Lokalbefund allein für die Beurteilung der Infektionsgefahr maßgebend und ausreichend sei. Sie gehen damit unseres Erachtens zu weit in der Unterschätzung der Laboratoriumarbeit und in der Ueberschätzung der zweifellos wertvollen Lokalaufnahme; denn nicht immer sind bei sicher bestehender fäkaler Verunreinigung grob sinnfällige Zeichen derselben vorhanden.

Es lag nahe, zum Nachweise der Wasserverunreinigung durch Dejekte statt der pathogenen Keime andere, leichter nachweisbare und sich länger im Wasser haltende Darmbakterien heranzuziehen, in erster Reihe des B. coli commune als obligatem Bewohner des menschlichen und tierischen Darmtraktes. Die Erfahrung, daß einzelne Coli-Keime den Verdacht nicht genügend begründen, führte dann zur Einführung ihrer quantitativen Schätzung (Coli-Titer). Weit strengere Anforderungen, als bei uns üblich, wo das Vorhandensein mindestens je eines Coli-Keims in 1 ccm Wasser als beweisend für Dejektbeimengung gilt, werden von englischen und amerikanischen Autoren an die Reinheit des Wassers gestellt. Durch die Erweiterung unserer Kenntnisse über die Verschiedenheit in der großen Coli-Gruppe ist jedoch die Bestimmung des B. coli commune zu einem recht umständlichen und längere Zeit in Anspruch nehmenden Verfahren geworden, während namentlich in Epidemiezeiten und bei der noch weit verbreiteten Einzelbrunnenversorgung die rasche Beurteilung einer oft großen Zahl von Wasserproben nötig ist. Man hat sich daher bemüht, abgekürzte Verfahren zu finden, die — anstatt der Feststellung des B. coli commune in allen seinen Eigenschaften — mit einer einzigen Ermittlung auskommen wollen, welche das Vorliegen des Colonbazillus oder eines anderen, nur der Fäkalflora angehörigen Keimes beweist, ohne die Reinkultur als Ausgangspunkt zu fordern, Proben, die sofort mit dem nativen Wasser angesetzt, in kurzer Zeit klare Antwort geben.

Die älteste dieser Exklusionsmethoden, die sich aber nicht eingebürgert hat, ist wohl die von Freudenreich 1895 angegebene Gärungsprobe, welche für Coli-Nachweis und Coli-Titer die Gasbildung in 5-proz. Milchzuckerbouillon wählt, welcher $^1/_{100}$—20 Tropfen des Wassers zugesetzt wurden. Die bekannteste und am meisten verwendete ist die Eijkmansche Gärungsprobe, welche den Nachweis von Keimen, die bei 46° C Traubenzucker vergären (thermotolerante Gärungserreger nach Rodet) zur Feststellung fäkaler Verunreinigung für völlig ausreichend hält. Erwähnt sei noch der „Thermophilentiter" von Petruschky und Pusch, der den gleichen Schluß aus dem Bakterienwachstum bei 37° C bei Verimpfung abgestufter kleiner Wasser-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mengen in Bouillon ziehen will. In jüngster Zeit hat Gersbach, eine alte Anregung von Schardinger weiter ausbauend, den „Indoltiter" zur Ermittlung solch suspekter Beimengungen verwertet.

(Außerhalb dieser, weiterhin noch zu besprechenden Einprobe- oder Exklusivmethoden steht der Versuch von W. Spät, die Zersetzungsfähigkeit des Wassers, gemessen an der Ammoniakbildung in Peptonlösungen, denen abgemessene Mengen Wasser zugesetzt wurden, zur Grundlage der Reinheitsprüfung zu machen. Hierfür gaben nicht die Coli-Bakterien den Ausschlag, sondern häufige Bodenbakterien, weshalb Spät den positiven Ausfall der Probe als Fingerzeig für einen Kontakt des Wassers mit oberflächlichen Bodenschichten ansieht.)

Ehe eigene Versuche besprochen werden, sei noch auf einige praktische Gesichtspunkte hingewiesen. Es ist ein Unterschied zu machen zwischen frisch erschlossenen Wasserspenden, bei denen es sich meist nur um mögliche Infektion in der Zukunft handelt, und der Prüfung in Benützung stehender Wässer in Epidemiezeiten. Im ersteren Falle hat man Zeit, Lokalerhebungen zu pflegen, chemische Analyse und bakteriologische Untersuchung heranzuziehen und durch Nachuntersuchungen den Zeitpunkt der Uebergabe der Wasserspende an den Verkehr festzusetzen. Zentrale Anlagen haben dann schon in der fortlaufenden Keimzählung und Artbestimmung ein wertvolles Mittel, rechtzeitig den Einbruch unkontrollierbarer Zuflüsse zu bemerken. Von Einzelbrunnen ist nur ein relativ geringer Teil in solcher Weise entstanden, zahllose andere sind ohne jede hygienische Beratung gebaut, und man steht bei Ausbruch einer Epidemie völlig unbekannten Wasserspenden gegenüber. Hier ist rasches Handeln nötig, Lokalbefund und Feststellung fäkaler Verunreinigung entscheidend. Chemische Erhebungen (Ammoniak, salpetrige Säure, organische Substanzen) können da allein nicht helfen, sie sagen teils zu wenig aus, teils zu viel — und auch letzteres ist tunlichst zu vermeiden, da sonst die Zahl der zu schließenden Brunnen leicht in ein umgekehrtes Verhältnis zu den verfügbaren Wasservorräten gelangt. Hier ist die Domäne jener Methoden, welche fäkale Beimengung sicherstellen oder ausschließen sollen.

Im Plane unserer Arbeit lag es zunächst, die Brauchbarkeit der Eijkman-Probe und des Indoltiters für die Wasserbegutachtung als Einzelproben vergleichsweise an einer größeren Zahl von Trink- und Badewässern zu prüfen. Ueber die Eijkmansche Probe lag eine beträchtliche Literatur vor, über die Indolprobe nur die Arbeiten von Schardinger und von Gersbach. Von selbst ergaben sich dabei manche Fragen der Coli-Biologie; wir versuchten auch, inwieweit der Gehalt des Wassers an thermotoleranten (bei 46° wachsenden) Keimen verwertet, die Anaërobiose herangezogen, eine Kombination biologischer Einzelverfahren zur Verbesserung des Nachweises fäkaler Verunreinigungen angewendet werden könnte, da wir von vornherein annahmen, daß keine Einzelprobe mehr als eine vorläufige Orientierung leisten könne. Auch die Beobachtungen an unseren Flußbädern waren dabei von Interesse.

Mit Recht wird allgemein die Forderung aufgestellt, daß die Proben für die bakteriologische Trinkwasseruntersuchung von Sachverständigen am Orte selbst steril entnommen und verarbeitet werden sollen. Diese Forderung ist jedoch heute nicht allgemein durchführbar, Entfernung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und geringe Zahl der Untersuchungsanstalten, Personalmangel und Kosten müssen es heute noch als zulässig erscheinen lassen, daß die Probenahme nach schriftlicher Anweisung über die hygienisch zweckmäßige Art derselben von intelligenten Personen vorgenommen und die Proben in Eispackung den Untersuchungsanstalten übersandt werden, will man nicht auf die Mitwirkung der Laboratorien verzichten. Das ist wohl kein idealer Zustand, aber viel Gutes würde entfallen, wollte man sich schon jetzt auf einen starren, viel weiter fortgeschrittene Einrichtungen voraussetzenden Standpunkt stellen; lehrt doch die Erfahrung, daß auch diese Mindestforderungen noch schwer zu erzielen sind.

Die Eijkmansche Gärungsprobe.

Sie wird von ihrem Autor nicht als Coli-Probe, sondern als solche auf thermotolerante Gärungserreger angegeben, wiewohl es zumeist Menschen- und Säuger-Coli in den Wässern sind, auch mitunter Vogel-Coli, wo Dachtraufenwasser zu Trinkzwecken dient. Kaltblüter-Coli, die als Zeichen von Infektionsgefahr gewöhnlich nicht in Betracht kommen, werden, da sie bei 46° C nicht wachsen (Christian, Thomann), oder doch Traubenzucker bei dieser Temperatur nicht vergären, durch diese Probe ausgeschlossen; dadurch gewinnt sie an Wert, während es uns mit Rücksicht auf Beimengung von Küchenspülwässern eher als Nachteil erscheint, daß nach Thomann Hefen bei 46° C weder Wachstum noch Gärung zeigen.

Die von Eijkman in einzelnen Fällen gefundenen thermotoleranten und Traubenzucker vergärenden Buttersäurebazillen sind uns bisher in Wässern nicht vorgekommen.

Bei der Untersuchung des Darminhaltes von 15 Kaltblütern, und zwar 3 Karpfen, 2 Hyla arborea (Laubfrosch), 6 Rana fusca, 3 Rana esculenta und 1 Salamandra macul. im Winter fanden wir nur beim Salamander — und da in großer Zahl — Coli-Bakterien, die in allen Eigenschaften mit dem menschlichen B. coli commune übereinstimmten, auch bei 46° C intensivste Traubenzuckervergärung zeigten. Das B. coli erwies sich keineswegs als obligater Darmkeim bei Kaltblütlern (wenigstens im Winter); die übrigen von Kaltblütlern gezüchteten Coli-Stämme zeigten keine Traubenzuckervergärung bei 46°, während alle 6 dieses Vermögen bei 37° hatten, 5 davon stimmten sonst mit dem Menschen-Coli überein, der 6. unterschied sich noch durch sehr langsame und lockere Milchgerinnung. Sonach ist die Fehlerquelle der positiven Eijkman-Probe durch etwaige Beimengung von Kaltblütlerdejekten — in manchen Gegenden sollen Frösche in Zisternen, „zur Reinhaltung des Wassers“ eingesetzt werden — geringfügig. Dagegen kann dieser Umstand belangvoll werden, wenn die Gärungsprobe nach dem Rate mancher Autoren bei 37° C angesetzt wird. Nicht nur alle 7 Coli-Stämme vergoren bei dieser Temperatur, wir fanden noch 4 andere Keime, also 11mal bei 15 Kaltblütlern Bakterien, die bei 37° vergären. Auch die Angabe von Remeltz, daß Coli von Süßwasserfischen bei Bruttemberatur nicht züchtbar seien, trifft für den Karpfen nicht zu. Schließlich gab auch eine Anzahl unverdächtiger nativer Wässer, die von Coli frei waren, positive Gärungsprobe bei 37° C.

Bemerkenswert erscheint, daß in den Kaltblütlerfäzes dreimal nicht vergärende, jedoch thermotolerante Keime gefunden wurden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Intensität des Gärungsvermögens erwies sich in unseren Versuchen — an der gelieferten Gasmenge gemessen — in weiten Grenzen (Kuppe bis $^3/_4$ des senkrechten Schenkels des Gärungsröhrchens) schwankend. Das hängt offenbar nicht bloß von der Zahl der in der eingebrachten Wassermenge (gewöhnlich 1 ccm) enthaltenen Coli-Keime ab, sondern auch von deren Resistenz gegen die bei der Gärung auftretende Azidität, der ja schließlich alle erliegen. Auch erscheint das Gärungsvermögen von vornherein beschränkt, da nach Ablauf der Gasbildung und bei noch weitergehendem Wachstum und zunehmender Azidität der Inhalt der Gärungsröhrchen (mit ursprünglich 1 Proz. Traubenzucker) starke Zuckerreaktion gibt, die zeigen, daß ein beträchtlicher Teil des Zuckers unvergoren geblieben ist, was wir bei Verimpfung von 6 Eijkman-Proben mit 6 verschiedenen Coli-Stämmen 5mal feststellen konnten. Als Grenze für den Eintritt der Probe fanden wir 4 Coli in 1 ccm Wasser, darunter versagte sie. Eijkman findet die Probe einwandfrei, auch Huss erklärt eine einzige Zelle für genügend, dagegen geben Konrich, Hehewert, Kruse, Nowak und Henningson an, daß eine große, bzw. beträchtliche Coli-Zahl vorliegen müsse. Diese Unstimmigkeit wird erklärlich, wenn man annimmt, daß individuelle Verschiedenheiten des Gärungsvermögens vorkommen, und berücksichtigt, daß auch der Aufenthalt im Wasser derartige Verschiedenheiten zeitigen kann. Ohlmüller-Spitta meinen, daß die Gärungsprobe dann öfter versage, wenn bereits degenerierte Keime vorhanden sind, was jedoch bei frischen und gefährlichen Infektionen nicht in Betracht komme, weil da immer auch lebenskräftige Coli-Bazillen vorkommen. Danach wäre also aus der Probe, wie auch schon Eijkman glaubt, ein Schluß auf den annähernden Zeitpunkt der Verunreinigung möglich. Tatsächlich fanden wir die Probe durch frisch aus den Fäzes isolierte Coli-Keime immer positiv, während diese, in sterilisiertes Leitungswasser eingesät, mitunter nach einigen Wochen Verlust des Gärungsvermögens oder überhaupt des Wachstums bei 46 (45)° boten; ja es ergab sich sogar für 2 Stämme, einmal auch bei Einsaat von 1000 Keimen pro 1 ccm des Leitungswassers, völliges Absterben aller Keime binnen 10—16 Tagen, so daß möglich ist, daß in manchen Fällen nach relativ kurzer Zeit die stattgefundene fäkale Verunreinigung nicht einmal mehr durch den ausführlichen kulturellen Coli-Nachweis ersichtlich gemacht werden kann. Der Fall dürfte nicht häufig sein in Anbetracht des gewöhnlich höheren Nährstoffgehalts verunreinigter Wässer. Jedenfalls ist der Wert negativer Eijkman-Proben geringer als der der positiven. Sehr gering erscheint dagegen die Fehlerquelle, hervorgerufen durch positiven Ausfall bei Abwesenheit fäkaler Verunreinigung; wir fanden vielmehr auch bei sehr hohen Keimzahlen und chemisch nicht einwandfreier Beschaffenheit negativen Eijkman, wenn die Verunreinigung anderen Ursprungs war. Wiederholte Anstellung der Probe, von Eijkman empfohlen, ist zweckmäßig; es war uns auch von Vorteil, wenn mehrere Gärungsröhrchen gleichzeitig aufgestellt würden, da wir ausnahmsweise von 2 Proben bloß 1 positiv werden sahen (nicht ganz gleichmäßige Verteilung der Keime).

Christian fand bei negativem Ausfall der Probe die Röhrchen meist steril, nur mitunter nach 2 Tagen eine geringe Trübung im offenen Schenkel, meist Heubazillen oder ein paar Kokken; bei uns waren thermotolerante Keime nicht selten, häufig trat Trübung des ganzen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Röhrchens und Hautbildung an der Oberfläche durch Sporenbazillen (Bodenbazillen) auf, so daß wir von der Absicht abstanden, die Thermotoleranz als Maßstab für fäkale Verunreinigung zu verwerten. Der positive Ausfall der Gärungsprobe bei 46° darf auch einen ihm bisher nicht eingeräumten Platz in der Systematik unter den übrigen Eigenschaften der Menschen- und Säuger-Coli beanspruchen, wenn auch nicht den ihm von Thomann zugedachten als wichtigstes Kennzeichen echter Coli. Frisch aus Fäzes gezüchtete Coli geben nahezu ausnahmslos positive Proben, wir konnten also die Angaben von Hehewert nicht bestätigen, der bloß 38,8 Proz. sicherer, aus Fäzes gezüchteter Coli im Besitze des Gärungsvermögens bei 46° C fand.

Die Einsaat betrug bei uns gewöhnlich 1 ccm Wasser, die Beobachtungszeit 48 Std., zumeist war die Gärung nach 24 Std. beendet; in dieser Zeit kommt ein Untergang der Coli-Bazillen durch die gebildete Säure nicht in Frage. Die untere Grenze der Wirksamkeit war bei Trinkwässern etwa 0,1 ccm, was mit den Angaben von Huß gut übereinstimmt. Ausnahmsweise wurde auch als Surrogat für den Eijkman die bei 46° gehaltene Traubenzuckeragarschüttelkultur verwendet.

Der Eijkmanschen Probe können wir sonach bei positivem Ausfall bedeutenden orientierenden Wert beimessen, sie kann als starker Verdacht fäkaler Verunreinigung gelten und in Epidemiezeiten und bei Massenuntersuchungen gute Dienste leisten. Ist die negative Probe auch weniger bedeutsam, so kann sie doch wenigstens die starken Verunreinigungen ausschließen, denn dann sind etwa vorhandene Coli-Bakterien entweder spärlich oder haben sie mit der Zeit Wachstum oder Gärvermögen bei 46° verloren oder es sind belanglose Kaltblüter-Coli. Jedenfalls ist jedoch dann die weitere Prüfung angezeigt. Unbrauchbar erscheint uns die Gärungsprobe bei Bruttemperatur, wenn hier auch, wie Schardinger schon 1894 feststellte, die Zahl der bei 37° vergärenden Keime bei fäkalen Beimengungen besonders groß ist.

Die Indolprobe (und der Indoltiter).

Schardinger zog zuerst 1894 die Indolprobe zur Wasserbegutachtung heran, indem er zu 10 ccm einer 10 Proz. Pepton und 10 Proz. Kochsalz enthaltenden Lösung 100 ccm Wasser hinzufügte, 24 Std. bebrütete. Er fand manchmal Indol, Schwefelwasserstoff, fäkalen Geruch; größerer Nitritgehalt hemmte die Reaktion. Da die von Schardinger zum Indolnachweis verwendete Beyer-Salkowski-Reaktion nach Frieber auch Indolessigsäure anzeigt, sind die Resultate nicht mehr beweisend.

Gersbach (1922) geht von der Voraussetzung aus, daß im Wasser fast nur die Bakterien der Coli- und Paracoli-Gruppe als Indolbildner vorkommen. Als Nährsubstrate verwendete er die Friebersche Trypsinbouillon oder eine 1-proz., durch Trypsin weiter abgebaute Witte-Peptonlösung mit Zusatz einiger Nährsalze, also tryptophanhaltige Nährlösungen. Als Indolreaktion wählt er die von Frieber modifizierte Ehrlich-Böhmesche Reaktion. So oft bei Beimpfung mit Wasserproben positive Indolreaktion auftrat, konnte er aus dem Wasser auch Coli-Bazillen reinzüchten, weshalb er im Indoltiter ein einfaches und billiges Verfahren zum Nachweis

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fäkaler Verunreinigung sieht. In der Tryptophankultur bekommt er noch Indolreaktionen bei Wassermengen, in denen mittels Plattenkultur Coli nicht mehr reinzuzüchten sind, einmal sogar in $^1/_{1000000}$ ccm Mainwasser, was einen theoretischen Keimgehalt von 1 Million Coli-Bakterien im Kubikzentimeter voraussetzt, eine Zahl, die sonst wohl höchstens in Kanaljauche oder Schlachthofabwässern vorkommen dürfte. Von 8 Kesselbrunnen waren nur 2 einwandfrei, das Wasser von 5 war mit $^1/_{100}$ ccm, von 2 mit $^1/_{10}$, von 1 mit 1 ccm positiv. Andere Indolbildner, die etwa im Wasser vorkommen könnten, sollen nach Gersbach gleichfalls fäkale Verunreinigung bedeuten.

Eigene Versuche ergaben zwar, daß auch tryptophanfreie Nährlösungen (gewöhnliche Fleischbrühe, Pepton-Kochsalzlösungen) dem Bact. coli die Indolbildung durch von diesem selbst zunächst bewerkstelligten Abbau zu Tryptophan ermöglichen, daß aber durch diese erste Etappe eine Verzögerung des Eintritts der Indolreaktion um 1—3 Tage erfolge.

Neben der von uns früher verwendeten Hottinger-Brühe bewährte sich die von Gersbach empfohlene, durch Peptonabbau gewonnene Tryptophanlösung, die wir in folgender vereinfachter Weise ohne weitere Zusätze herstellten: Zu 800 ccm sterilisierten Leitungswassers und 200 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung wurden 20 g Pepton und 1 g Pankreatin zugesetzt, durchgeschüttelt, mit 20 ccm Chloroform versetzt, 3 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen, angesäuert, dann filtriert, neutralisiert mit Sodalösung, auf Tryptophan geprüft. Das chloroformfreie Filtrat wurde dann zu 8 ccm in Eprouvetten abgefüllt und diese sterilisiert. Als Indolprobe diente hier die von uns früher verwendete Ehrlichsche mit dem Urobilinogenreagens, weiterhin blieben wir aber bei der überaus scharfen und sinnfälligen Pyrrolreaktion mit Nitroprussidnatrium, wobei nach Laugezusatz eine tiefburgunderrote Färbung auftritt, die nach Uebersäuerung mit konz. Essigsäure in tiefblau, bei minimalem Indolgehalt in blaugrün umschlägt. Die positiven Reaktionen waren zumeist in der 1-tägigen Kultur sehr deutlich, der Indoltiter $1—^1/_{10}$ ccm, auch im Moldauwasser maximal $^1/_{100}$ ccm. Das entsprach annähernd dem Coli-Gehalt, und wir konnten bestätigen, daß ein Keim in der betreffenden Wassermenge zum Auftreten der Reaktion genügt, ein Vorsprung vor der Eijkman-Probe. In allen Fällen, wo die letztere positiv war, war es auch die mit 1 ccm Wasser beimpfte Tryptophankultur bezüglich des Indols. Dagegen bekamen wir auch schwach und selbst stark positive Indolproben mit $1—^1/_{10}$ ccm Einsaat, ohne daß die Züchtung milchzuckersäuernder Keime in Kulturen ohne Kristallviolett gelang, bei negativem Eijkman und Mangel von Zeichen fäkaler Beimengung zu wiederholten Malen. (Auch Horowitz fand im Nevawasser im B. aquat. communis einen Indolbildner, der mit Dejektverunreinigung nichts zu tun hat.) Wir versuchten deshalb die Probe dadurch zu verschärfen, daß wir sie gleichzeitig mit Tryptophankulturen bei 45 bis 46° anstellten. Vorversuche mit frisch aus Fäzes gezüchteten Coli-Stämmen ergaben, daß diese — soweit sie überhaupt Indolbildner waren — so gut wie ausnahmslos starke Indolbildung bei dieser Temperatur hervorriefen. Eine erhebliche Zahl von Wasserproben bot das gleiche Verhalten der damit angelegten Kulturen, und dann war die Indolbildung stets durch B. coli bedingt. Aber in einer erheblichen Zahl von Proben mit Coli-Befund und Indolbildung bei 37° versagte

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Indolnachweis bei 45°. In theoretischen Versuchen sahen wir bei mehrwöchigem Aufenthalt in sterilem Leitungswasser einzelne Stämme das Indolbildungsvermögen für 45°, einen auch für 37° einbüßen. Vielleicht erklärt sich daraus der auffallend häufige Befund anindolischer Wasser-Coli bei Horowitz.

Sonach hat die Indolprobe gegenüber der Eijkmanprobe den Nachteil, daß ihr positiver Ausfall nicht sicher genug für fäkale Verunreinigung spricht, wenn die Kulturen bei Bruttemperatur gewachsen sind. Bei 45° ist sie beweisend, zeigt aber öfter negativen Ausfall trotz Coli-Befund. Jedenfalls ist sie eine willkommene Ergänzung der Gärungsprobe. Für Trinkwässer genügt die Anstellung mit 1 ccm Wasser, der Titer ist hier von untergeordnetem Wert wegen seiner nach unten engen Grenze.

Wir fanden weiter, daß in dem genügend feucht gehaltenen Thermostaten bei 45° im kristallviolettlosen Drigalski-Agar Coli-Bazillen gut aufgehen, stellten hier Plattenkulturen, Gärungsröhrchen, Tryptophankultur ein und bekamen so nach 24 Std. im Auftreten runder, roter Kolonien (mitunter Gasblasen), Gasbildung, Indolreaktion eine Trias sicherer Zeichen fäkaler Verunreinigung, wobei am öftesten die Indolprobe versagte. Daher wurde stets gleichzeitig eine Tryptophankultur bei 37° gehalten. Aus dem Ausfall der Proben in ihrer Kombination ergab sich der Wahrscheinlichkeitsgrad des Infektionsverdachtes von selbst.

Die Bestimmung der Thermotoleranten zeigte sich für den genannten Zweck wenig brauchbar; entgegen verbreiteter Anschauung fanden wir sie auffallend häufig in unseren Wasserproben, besonders Sporenträger, die bei 45° den Inhalt der Gärungsröhrchen ohne Gasbildung intensiv trüben, Häute bilden, Agarplatten rasch mit Bakterienrasen überziehen, aber auch andere; selbst aus dem Darminhalt von Kaltblütlern wurden thermoresistente Keimarten gezüchtet.

Durch Anaërobiose bei 37° kann eine Anreicherung der Coli im Wasser nur insoweit erzielt werden, als obligat aërobe Thermophile ausgeschaltet werden. Der Gewinn ist dabei nicht groß. Das Tarozzi-Wrzozeksche Verfahren, wobei steril entnommene Organstückchen (z. B. Meerschweinchenniere) in die Kulturflüssigkeit gebracht oder das mit solchen Organteilen beschickte Substrat vor Beimpfung im Dampftopf sterilisiert wird, erschien hierzu geeignet.

Eine Kombination von Eijkman- und Indolprobe bei 45° in Einem erzielten wir dadurch, daß in Eprouvetten, die mit Traubenzuckertryptophanlösung beschickt und am Boden mit reichlicher sterilisierter Schlemmkreide versehen waren, Coli-Bakterien eingesäet wurden. Außer der Gasbildung trat infolge des Ausbleibens der Azidität bei frisch gezüchteten Darm-Coli intensive Indolbildung auf. Da die Gasbildung hier wiederholt kontrolliert werden muß und nach 24 Std. öfter nicht mehr ersichtlich ist, während die gewöhnlichen Gärungsröhrchen wegen der Verlegung des U-förmigen Anteils durch die Schlemmkreide nicht verwendbar sind, sollen die Versuche auch mit nativem Wasser an eigens konstruierten Gärungsröhrchen fortgesetzt werden. (Nach Theobold Smith ist ein Traubenzuckergehalt von 0,1—0,3 Proz. für Bakterien schonend und wachstumsfördernd, mehr als 0,5 Proz. für viele schädlich;

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Coli-Kultur in 1-proz. Traubenzucker fand er in 6 Tagen steril. Abgesehen davon, behindert aber die Säurebildung bekanntlich die Entstehung von Indol.)

Die Angaben von Gersbach über Flußwasser und Schwimmbäder veranlaßten uns, auch unseren Flußbädern das Augenmerk zuzuwenden. Wir fanden die Moldau bei weitem nicht so verunreinigt, wie es nach Gersbach der Main war. Die höchste Coli-Zahl war 154 in 1 ccm Wasser eines stark besuchten Flußbades (Schwimmschule), viel günstiger war ein kleines Flußbad mit ca. 50 Besuchern. Alle Proben, an verschiedenen Stellen außerhalb und innerhalb der Stadt zeigten übereinstimmend weit bessere Verhältnisse, was Coli-Zahl, Eijkman- und Indolprobe betrifft, in der Mitte des Flusses und auch an den Ufern, als in den Schwimmbassins, wo das Wasser bei langsamerer Strömung von der Hautoberfläche der Badenden zahlreiche Coli-Keime aufnimmt. Wenn trotzdem durch diese Bäder nur ausnahmsweise Typhusfälle entstehen, so liegt dies wohl daran, daß in der Badezeit wohl fortlaufend Coli, aber nur selten gleichzeitig Typhusbazillen aufgenommen werden (von Harn- oder Darmbazillenträgern). In Orten mit guter Abwässerreinigung ist sonach der Coli-Titer des Schwimmschulwassers als Maßstab der Typhusgefahr nicht so hoch einzuschätzen, wie im Trinkwasser und ein Coli-Keim pro 1 ccm gewiß nicht allgemein bedenklich.

Schließlich seien noch 2 Beispiele der Wasserbegutachtung mitgeteilt, von denen das 1. die Ueberlegenheit der hier behandelten biologischen Methoden gegenüber der Keimzählung, das 2. die gelegentliche Wichtigkeit der chemischen Analyse illustriert: 7 Bergwässer, zu Badezwecken bestimmt, sollen auf fäkale Verunreinigung geprüft werden. Das steril entnommene Wasser ist 2—3 Tage unterwegs gewesen, die Keimzahlen sind 5000, 6000, 5400, 20000, 21000, 20000, 90000. Salpetrige Säure und Ammoniak fehlen oder sie sind in minimalen Spuren vorhanden, die Härte ausschließlich Karbonathärte. Keines der Wässer enthält Coli-Bazillen, keines zeigt positiven Eijkman. Ein Wasser führt zu starker, zwei zu geringer, vier zu keiner Indolbildung. Man kann keines der Wässer als fäkal verunreinigt bezeichnen.

(Umgekehrt hat Grijns, der die Eijkman-Probe besonders hoch einschätzt, in natürlichen Wasserproben hohen Eijkman-Titer bei Keimzahlen von 20–75 im Kubikzentimeter gesehen und dadurch negativen Lokalbefund beanstandet, was zur Auffindung verborgener Infektionsquellen führte.)

Bei einem neu erschlossenen Kesselbrunnen waren Keimzählung, Coli-Titer, Eijkman und Indolprobe übereinstimmend sehr ungünstig. Dagegen ließ der gute, chemische Befund des Grundwassers hoffen, daß möglicherweise eine Sanierung des Brunnens eintreten werde und die Verunreinigung — offenbar fäkaler Herkunft — vorübergehend sei. Der Brunnen lag in wasserarmem, geologisch anscheinend ungünstigem Terrain, der Wasserspiegel in einer Tiefe von 12 m. Auf ca. 5 m einer „Erdschicht“ (Nähe einer Arbeiterkolonie) folgten 2 schräge, verworfene Schieferschichten, die bis an die wasserführende Schicht heranreichten. Die große Wassernot ist bestimmend dafür, den Brunnen mit allen Mitteln zu erhalten. Nach Zementierung des Brunnenschachtes, einwandfreier Eindeckung und Herrichtung seiner Umgebung tritt allmählich ohne Erniedrigung des Wasserspiegels eine dauernd befriedigende Beschaffenheit des Trinkwassers ein, das reichlich vorhanden ist. Im

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Juli ergab die chemische Untersuchung bei einem Chlorgehalt = 18 mg im Liter, organ. Substanz = 0,82 mg O, Abwesenheit von Ammoniak und salpetriger Säure folgenden chemischbiologischen Befund: Keimzahl 24000, Coli in 1 ccm = 40, Eijkman und Indol stark positiv; Ende September: Keimzahl 4000, Coli in 1 ccm = 22, Eijkman und Indol stark positiv; Ende November: Keimzahl 95, keine Coli, Eijkman und Indol negativ. Es kann also auch einmal die heute oft niedrig eingeschätzte chemische Analyse recht bedeutsam werden.

Zusammenfassung.

1) Für die Prüfung neu erschlossener Wasserspenden ist die chemische und bakteriologische Untersuchung als Ergänzung des Lokalbefundes unerläßlich.

2) Bei Epidemiegefahr kann zur raschen Orientierung über in Gebrauch stehende Wässer von Exklusivmethoden Gebrauch gemacht werden — neben dem Lokalaugenschein.

3) Die Eijkman-Probe steht hier obenan, alle Wässer, mit denen diese Gärungsprobe bei 45° positiv ausfällt, sind fäkaler Verunreinigung verdächtig. Die negative Probe macht weitere Erhebungen notwendig. Die Gärungsprobe bei 37° C ist als Einzelprobe unbrauchbar.

4) Die Indolprobe tritt schon bei einzelnen Coli-Keimen auf, hat aber durch das Vorkommen indolbildender, der Fäkalflora nicht angehöriger Keime im Wasser eine größere Fehlerbreite. Die von uns verwendete Prüfung der bei 45° C gewachsenen Kulturen weist im positiven Falle sicher auf fäkale Verunreinigung hin, ihre erhebliche Fehlerquelle ist das öftere Versagen bei längerem Aufenthalt der Coli-Bazillen im Wasser.

5) Die Kombination von Traubenzuckervergärung, Indolbildung, Wachstum milchzuckersäuernder Kolonien bei 45° (mit Indolbildung bei 37° ergänzt) gibt nach 24 Std. eine verschärfte Diagnose von Vorhandensein oder Fehlen fäkaler Verunreinigung.

6) Es werden verschiedene Fragen der Coli-Biologie — besonders m Wasser — untersucht.

Literatur.

1) Bulíř, Arch. f. Hyg. Bd. 62. — 2) Christian, Ibid. Bd. 54. S. 386. — 3) Eijkman, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. S. 742 u. Bd. 39. — 4) Freudenreich, Ibid. Bd. 18. S. 104. — 5) Gersbach, Ibid. Bd. 88. S. 145. — 6) Grijns, Ibid. Abt. II. Bd. 50. S. 64. — 7) Hehewert, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 65. S. 253. — 8) Horowitz, Ibid. Abt. II. Bd. 38. — 9) Huss, Ibid. Bd. 48. S. 295. — 10) Kruse in Weyls Handb. d. Hyg. — 11) Ohlmüller-Spitta, Die Untersuchung und Beurteilung des Wassers und der Abwässer. Berlin (Springer) 1921. — 12) Petruschky u. Pusch, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 43. — 13) Salus, G., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. S. 103. — 14) Smith, Ibid. Bd. 18. S. 3. — 15) Späth, W., Arch. f. Hyg. Bd. 74. S. 237. — 16) Schardinger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 16. S. 853. — 17) Thomann, Hyg. Rundsch. 1907. S. 85.

Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Eine einfache Methode zur Schnellfärbung von Blut und Blutparasiten[1]).

[Aus dem Tropeninstitut zu Moskau.]

Von **Sch. Moschkowski.**

Die folgende Methode wurde von mir Ende 1921 für Schnellfärbung von Malariablutpräparaten vorgeschlagen. Sie hat sich als schnell und billig, besonders bei Massenuntersuchungen (2), gut bewährt und ist für orientierende Untersuchungen der Blutmorphologie, für Malariadiagnose, Trypanosomenfärbung, für Ausstriche aus Orientbeulen usw. brauchbar.

Es wird nur eine Farbstofflösung angefertigt: 1 g Methylenblau (am besten medizin. puriss. Höchst, andere Marken sind ebenfalls brauchbar) und 2 g Borax werden in einem Mörser zerrieben und in 100 ccm heißen Wassers (ca. 90° C) aufgelöst. Abkühlen — filtrieren. Man kann auch im voraus den Borax in kochendem Wasser auflösen, dann die Flamme entfernen und das Methylenblau hinzufügen.

Die Färbung erfolgt in folgender Weise: Es werden nebeneinander 2 Gefäße von solcher Größe, daß man einen Objektträger in sie bequem eintauchen und herausnehmen kann, und ein größeres Gefäß mit Leitungswasser gestellt. In eine Küvette füllt man die 3—5mal verdünnte Farblösung, in die 2. eine 2—5-proz. Tanninlösung. Man kann eine gesättigte filtrierte, wässerige Tanninlösung in einer verschlossenen Flasche unter Zusatz eines Stückchens Kampfer oder Thymol aufbewahren und ex tempore 8—12mal verdünnen, wobei auch Leitungswasser angewandt werden kann.

Das etwas kürzer als gewöhnlich fixierte Präparat (5—10 Min. 96-proz. Aethylalkohol, 1—2 Min. Methylalkohol) wird in das 1. Glas eingetaucht (umrühren!) und fast sofort (nach 2—5 Sek.) herausgenommen, im großen Gefäße mit Leitungswasser (oder unter dem Wasserstrahle) sorgfältig abgespült, dann für 1—3 Sek. in die Tanninlösung eingetaucht (umrühren!) und wieder abgespült. Die ganze Prozedur dauert ungefähr 10 Sek.

Bei Massenuntersuchungen kann man 2 Objektträger — die Ausstriche nach außen — aneinander gedrückt mit einer Pinzette nehmen und wie ein Präparat behandeln.

Die Tanninlösung muß ersetzt werden, wenn sie grün wird. Die verdünnte Lösung im 1. Glase kann monatelang ihre Färbekraft behalten.

Man kann auch als Farblösung eine 5—10mal verdünnte Boraxmethylenblaulösung nach Manson (2 g Mbl., 5 g Borax, 93 ccm Aq.) anwenden.

Die Färbung kann auch auf dem Objektträger durchgeführt werden, indem man auf das Präparat für einige Sekunden die verdünnte Farblösung bringt, sorgfältig abspült, dann für einige Sekunden die Tanninlösung, und wieder abspült.

---

1) Nach einem Vortrage in der Russischen Protistologischen Gesellschaft, Moskau am 6. Febr. 1922.

Generated on 2019-09-17 13:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Es ist nicht notwendig, die Verdünnungen peinlich genau anzufertigen. Aenderungen der Konzentration der verdünnten Farblösungen im 1. Glase, wie auch Schwankungen der Färbungs- und Tanninbehandlungsdauer führen zu Variationen der Nuance des Präparates.

Das gefärbte Präparat gleicht etwas einem Giemsa-Präparat und unterscheidet sich hauptsächlich in der Farbe der azurophilen Substanzen und in der negativen Darstellung der eosinophilen Körnelung.

Erythrozyten rosa bis rötlichviolett. Polychromatophile gut erkennbar. Leukozytenkerne rot. Die feinere, gefelderte Struktur der polymorphen Kerne tritt sehr deutlich hervor. Neutrophile Körnelung schwach rötlich. Eosinophile Körnelung negativ dargestellt; die Eosinophilen sind an ihrem mit weißen Körnern angefüllten Protoplasma leicht zu erkennen. Das Protoplasma der Lymphozyten blau. Der rote, deutlich strukturierte Kern ist oft von einer helleren Zone umgeben. Neben ihm oder in seiner Einkerbung ist der helle Protoplasmateil, der die Sphäre enthält, sichtbar. Das Schagrinprotoplasma der Monozyten ist meistens graublau, das Netzwerk der Blutplättchen schwach rötlich.

Das blaue Protoplasma der Malariaplasmodien hebt sich sehr scharf auf dem rötlichen Erythrozyten ab. Das Pigment ist sehr deutlich sichtbar. Schüffnersche Körnelung schwach rötlich. Die Kerne der Ringe und der jüngeren Schizonten sind tief rot gefärbt, die aufgelockerten Kerne der älteren viel schwächer dargestellt, die Gametenkerne kaum sichtbar.

Bei Ausstrichen aus einer Orientbeule sind die Leishmanien scharf hervorgehoben, bläuliches Protoplasma, Kern und Blepharoplast rot bis rötlichviolett. Trypanosomenprotoplasma blau mit metachromatischen Einschlüssen. Kern, Blepharoplast und Geißel schwach gefärbt.

Die beschriebene Methode habe ich im Laufe von Untersuchungen über das Wesen der Färbung der azurophilen Substanzen ausgearbeitet. Ich wurde darauf aufmerksam, daß manche Substanzen die Farbe von Präparaten, die mit Methylenblau und seiner Abbauproduktlösungen gefärbt waren, zu ändern imstande sind. Einige solche Stoffe haben für den Histologen wesentliches Interesse, da der durch sie hervorgerufene Farbenumschlag ganz elektiv ist und nach Einwirkung einer entsprechenden Lösung das vorher einfarbige bläuliche Präparat eine große Mannigfaltigkeit der Nuancen verschiedener Strukturelemente zeigt. Manche Autoren (1, 4) glaubten sogar die Ursache der Romanowski-Färbung darin zu sehen, daß das Eosin auch als eine solche „metachromatisierende" Substanz, nicht aber als Farbstoff in der Entstehung der spezifischen roten Nuance beteiligt sei.

Keine von den von mir ausgeprüften Substanzen (Kaliumbichromat, Resorzin, Pikrinsäure u. a.) war aber imstande, den azurophilen Substanzen eine leuchtend rote Nuance zu verleihen. Auch nicht das Tannin, auf dessen „metachromatisierenden" Eigenschaften schon Nicolle (5), Unna (7), Neumann (4) u. a. aufmerksam gemacht haben.

Wie oben erwähnt, bekommen nach der angeführten Methode die azurophilen Substanzen in den Kernen der jungen Malariaplasmodien, in den Leukozytenkernen, öfters auch in den Blutplättchen eine rote Nuance. Diese Nuance unterscheidet sich aber von der leuchtend roten Farbe derselben Elemente bei Romanowski-Färbung. Obgleich auch bei letzterer die lockeren Kerne der erwachsenen Plasmodien und besonders der Gametozyten mit einigen Lösungen schwerer als die Kerne

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Ringe darstellbar sind (6), ist doch bei der beschriebenen Tanninmethode die Nuance der Gametozytenkerne so schwach, daß sie öfters farblos aussehen. Die Kernfärbung bei unserer Methode zeichnet sich auch durch eine scharfe Darstellung der strukturellen Feinheiten aus. Die Kerne werden dabei nie mit einer so dichten Hülle bedeckt, wie dies bei intensiven Romanowski-Färbungen der Fall ist.

Das Wesen der Tanninwirkung ist sehr verwickelt, zumal wir es hier auch mit einer Gerbung des Präparates zu tun haben. Unna (8) glaubte, daß das Tannin nur „differenzierend" wirke, indem es das Methylenviolett und Methylenrot auf den Erythrozyten und anderen Elementen fixiere. Methylenrot kann aber in alkalischen Lösungen nicht bestehen (3). Andererseits konnte ich einen Farbenumschlag ins Rot auch bei solchen Präparaten erzielen, die mit Methylenblaulösungen gefärbt waren, welche kein Methylenviolett enthielten. Neumann (4) hat einen neuen Begriff „relative Metachromasie" ausgebildet; dessen Bedeutung aber ganz unklar ist. Es ist noch fraglich, warum das Methylenblau, das an und für sich zur Metachromasie unfähig ist, unter der Wirkung des Tannins diese Eigenschaft erwirbt.

Vielleicht können folgende Ueberlegungen und Tatsachen ein wenig Licht in das Wesen der Tanninwirkung bringen:

Das Tannin stellt einerseits keine einheitliche chemische Substanz vor, vielmehr ein Gemisch. Verschiedene Tanninpräparate haben keine einheitliche Zusammensetzung. Andererseits hat die Mannigfaltigkeit der chemischen und physikalischen Eigenschaften der verschiedenen strukturellen Elemente des Präparats für die Prozesse des Farbenumschlages eine große Bedeutung. Besonders verwickelt werden die Verhältnisse, wenn die Farblösung ein Gemisch mehrerer Farbstoffe darstellt, wie es bei Anwendung von alkalischen Methylenblaulösungen meistens der Fall ist. Dann nehmen die verschiedenen Strukturelemente des Präparats ihrer chemischen Zusammensetzung und physikalischen Eigenschaften gemäß die verschiedenen Farbstoffe in verschiedenen Mengen oder sogar Form (mögliche Tautomerie der Farbstoffmolekülen, resp. Ionen) auf. Die endlichen Produkte des Zusammenwirkens von Substrat, Farbstoff und Tannin können daher sehr verschieden sein.

Von großem Interesse ist auch die Beobachtung von Nicolle, der fand, daß Schnitte, die mit alkalischer Methylenblaulösung gefärbt sind, nur dann durch Tannin gerötet werden, wenn sie noch nicht vollständig fixiert waren. Aus diesem Grunde darf man bei der hier beschriebenen Methode nicht zu lange fixieren!

Da die Alkoholfixation mit Wasserentziehung verbunden ist, kann die Beobachtung Nicolles mit einigen meiner Beobachtungen in Zusammenhang gebracht werden. Nach der Färbung mit der verdünnten Farblösung sehen die feuchten, abgespülten Präparate bläulich-violett aus, werden aber rein blau, wenn sie trocknen, und auch unter dem Mikroskope sind sie dann einfarbig blau. Betrachtet man aber das Präparat im Wasser (1 Tropfen Wasser auf das Präparat — Deckglas), so bekommen die Erythrozyten und die Leukozytenkerne wieder einen Stich ins Violette.

Die Bedeutung physikalischer Momente wird auch aus der folgenden Beobachtung ersichtlich: Wird das Präparat vor der Behandlung leicht geritzt, so kann man im gefärbten Präparate Stellen finden, wo die roten Blutkörperchen ein wenig geschädigt sind. Man kann dann in der Richtung eines Ritzes Risse an der Erythrozytenoberfläche finden, wo

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die abgerissenen Teile über den Rand des Körperchens heraustreten. Solche Erythrozyten sind, wie die ungeschädigten, rosa gefärbt, nur die verletzten Stellen und die aus ihnen herausgetretenen Massen bleiben blau. Daß hier nicht der Unterschied in der chemischen Zusammensetzung der Hülle und des Inhalts der Erythrozyten, sondern die Aenderung des physikalischen Zustandes diesen Unterschied bewirkt, ist aus der folgenden Beobachtung von Vail (9) klar: Schnitte aus der Schilddrüse nach der polychromen Methylenblau-Tanninmethode Unnas gefärbt, enthalten in manchen Alveolen rotes Kolloid, bleiben aber blau an den Stellen, wo die Oberfläche durch das schartige Mikrotommesser geritzt wurde.

Zusammenfassung.

Für Massenuntersuchungen von Blut- und Organausstrichen hat sich folgende Schnellfärbungsmethode bewährt: Färben (Eintauchen) 2—5 Sek. mit einer 3—5mal verdünnten alkalischen Methylenblaulösung: 1 g Methylenblau, 2 g Borax auf 100 ccm heißen Wassers. Sorgfältig abspülen. In eine 2—5-proz. Tanninlösung für 1—3 Sek. eintauchen. Abspülen. Trocknen. Erythrozyten rötlich. Leukozytenarten gut differenziert, Kerne rot. Malariaplasmodien blau, die jungen Schizonten mit rotem Kern. Sonstige Protozoen ebenfalls darstellbar.

Literatur.

1) Lee-Mayer, Grundz. d. mikrosk. Technik. 1910. S. 204. — 2) Marzinowski, Szukow u. a, Die Malaria der Schaturschen Torfsümpfe usw. Moskau 1923. [Russisch.; im Druck.] — 3) Michaelis, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 29. 1901. S. 763. — 4) Neumann, ebenda. Bd. 43. 1907. H. 7. — 5) Nicolle, Ann. Inst. Pasteur. T. 6. 1892. p. 783. — 6) Ruge, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 33. 1900. S. 178. — 7) Unna, Monatsh. f. prakt. Dermatol. Bd. 16. 1893. S. 109. — 8) Ders., ebenda. S. 352. — 9) Vail, Virch. Arch. Bd. 240. 1922. S. 295. Fig. 1.

Nachdruck verboten.

Die Tätigkeit der Sektion im Jahre 1921.

[Mitteilung aus der antirabischen Sektion des Pasteurinstitutes in Klausenburg (Cluj).]

Von Dr. **Daniel Konrádi,** Leiter der Sektion.

1921 wurden 3195 Personen behandelt, von denen 15 starben, bei 10 unter den letzteren trat aber die Wut während der Behandlung, bei einem innerhalb 15 Tagen nach Beendigung derselben auf, einer meldete sich mit schon ausgebrochener Wut, ein anderer unterbrach die Behandlung am 3. Tage und erschien erst dann zum 2. Male, als er schon wutkrank war, so daß diese 13 Todesfälle abzuziehen sind und nur **2** bleiben, was einer Mortalität von **0,06 Proz.** entspricht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Behandelten zerfallen in folgende Gruppen:

	Kopf-Gesichtverletzungen			Handverletzungen			Brust- und Extremitätsverletzungen			Summe		
	Behandelt	Gestorben	Mortalität Proz.	Behandelt	Gestorben	Mortalität Proz.	Behandelt	Gestorben	Mortalität Proz.	Behandelt	Gestorben	Mortalität Proz.
A.	13	—	—	211	—	—	76	—	—	300	—	—
B.	43	1	2,32	394	2	0,25	195	—	—	632	3	0,47
C.	148	7	4,72	1216	2	0,16	884	3	0,33	2248	12	0,53
	204	8	3,92	1821	4	0,21	1155	3	0,25	3180	15	0,47

Die Behandlung geschah nach der Methode von Babes-Puscariu.
Die Infektionsquelle war:

Hund	in	89,79 Proz.,	Mensch	in	0,16	Proz.,
Katze	„	6,04 „	Ziege	„	0,31	„
Rinder	„	1,95 „	Fuchs	„	0,09	„
Schwein	„	0,91 „	Wolf	„	0,03	„
Pferd	„	0,69 „	Kaninchen	„	0,03	„

I. Gestorben während der Behandlung:

1) V. K., 35 Jahre alt. Gebissen 21. Jan. an Lippe und Augenlid. Gest. 12. Febr., 27 Tage nach der Verletzung. Inkubation 24, Stadium morbi 3 Tage.

2) S. G., 30 Jahre. Biß den 26. Jan. am Oberarm. Wutkrank am 8. Febr. Gestorben am nächsten Tage. Inkubation 13, Stad. morb. 2 Tage.

3) B. A., 20 Jahre. Verletzung am 7. April am Ober- und Unterarm. Gest. den 22. April. Inkubation 13, Krankheitsverlauf 3 Tage.

4) O. G., 56 Jahre. Gebissen den 5. April an der Hand und am Oberarm. Gest. den 22. April. Inkubation 15, Krankheitsverlauf 3 Tage.

5) B. S., 2 Jahre. Verletzt am 4. März. Wurde erst am 19. April (!!) ins Institut gebracht, als eine Kuh und ein Schwein, die zu gleicher Zeit gebissen waren, der Wut erlagen. Starb an Lyssa den 28. April. Inkubation 54, Verlauf 2 Tage.

6) T. A., 7 Jahre. Gebissen den 21. Juni am Gesicht 11, an der oberen Extremität 16, an der unteren 23 Verletzungen. Gest. den 11. Juli. Inkubation 23, Verlauf 1 Tag.

7) V. E., 3 Jahre. Gebissen 1. Okt. am Augenlid. Gest. den 19. Okt. Inkubation 14, Verlauf 5 Tage (stille Wut).

8) C. M., 8 Jahre. Verletzung den 6. Okt. am Kopf und Augenwinkel. Gest. den 29. Okt. Inkubation 15, Verlauf 9 Tage (stille Wut).

9) C. G., 12 Jahre. Gebissen 2. Juli am Kopf. Gest. den 24. Juli. Inkubation 20, Verlauf 3 Tage.

10) C. T., 24 Jahre. Verletzt 23. Nov. am Augenlid und Augenwinkel. Gest. den 9. Dez. Inkubation 14, Verlauf 3 Tage.

II. Gestorben innerhalb 15 Tagen nach der Behandlung.

1) L. V., 9 Jahre alt. Gebissen den 9. Mai an der Hand. Wurde vom 14. bis 29. Mai behandelt. Gest. an der Wut am 5. Juni, 8 Tage nach der Behandlung. Inkubation 26, Verlauf 2 Tage.

III. Gestorben später als 15 Tage nach der Behandlung.

1) L. A., 67 Jahre alt. Verletzt den 12. März an der Hand. Behandelt vom 13.—29. März. Gest. den 21. April, also 23 Tage nach der Behandlung. (Nähere Daten unbekannt.)

Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

2) B. S., 76 Jahre alt. Gebissen am 13. April am Fuße. Behandelt vom 16. bis 29. April. Gest. den 13. Sept., 137 Tage nach der Behandlung.

IV. Wurde mit ausgebrochener Wut eingebracht.

1) R. G., 55 Jahre alt. Gebissen den 1. Mai an der Hand. Wurde am 4. Juli, 65 Tage nach der Verletzung, eingebracht mit allen typischen Symptomen der Wut und erlag denselben Tag.

Nachdruck verboten.

Eine Methode der quantitativen Messung der thermometrischen Belastung bei Infektionskrankheiten.

Von Prof. Dr. med. **M. J. Breitmann** (Petersburg).

Die Biologie und speziell die Medizin streben, genaue Zahlenkriterien für physiologische und pathologische Erscheinungen festzustellen; solche sind z. B. das Pulszählen, die Thermometrie, die anthropologischen Messungen usw.

Was speziell die Infektionskrankheiten betrifft, so wäre es sehr wünschenswert, eine Methode zu haben, um die Schwere der Erkrankung während ihres ganzen Verlaufes zahlenmäßig auszudrücken. Wenn man als Maßstab das am meisten der Bewertung zugängliche Zeichen nimmt — die hohe Temperatur (im folgenden abgekürzt: t°), so kann man die Erkrankung als desto schwerer betrachten, je länger und je höher die t° war. Die Sachlage wird nicht im mindesten durch die Tatsache geändert, daß die hohe t° nicht nur eine schädliche, sondern auch im hohen Grade eine nützliche Wirkung für die Selbststeuerung und Schutzvorrichtungen des Organismus hat. Die von mir zu beschreibende Methode der quantitativen Messung der thermometrischen Belastung bleibt dieselbe.

Als einfachster Ausdruck dieser beiden Funktionen (im mathematischen Sinne), d. h. der Länge und der Höhe der Temperaturerhöhung, kann der Inhalt zwischen der geraden Linie der normalen t° und der gebrochenen Linie der t°-Kurve dienen. Man kann annehmen, daß, je größer dieser Inhalt ist, desto größere Last oder Belastung der t° der Kranke während des ganzen Laufes des Infektionsprozesses zu tragen hat. Je länger und höher die t°, desto größer ist die thermometrische Belastung des Kranken, und vice versa.

Der Nutzen des Berechnens der thermometrischen Belastung in genauen Zahlen wird am besten durch konkrete Beispiele bewiesen:

Nehmen wir die einfache Kurve der Febris recurrens mit 2 Anfällen: Die thermometrische Kurve hat die Gestalt zweier „Türme". Nehmen wir als thermometrische Einheit der Belastung TE. die t° — Erhöhung auf 1° in 24 Std. (1 Grad — Tag), so mißt in einem typischen Falle der Febris recurrens der Inhalt des 1. „Turmes" in Mittelzahlen 17,5 TE, der Inhalt des 2. — 14,5 TE und beider zusammen — 32 TE. In einem abortiven Falle kann diese Belastung sich auf 10 bis 16 TE vermindern, in einem schweren, protrahierten mit 3 und mehr Anfällen und verschiedenen Komplikationen aber bis 40—60–80 TE und mehr steigen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Für Fälle des Abdominaltyphus mittlerer Schwere erhält man bei derselben Messungsmethode 48—64 TE; die größere Zahl im Vergleich mit der Febris recurrens, ungeachtet der höheren t° bei der letzteren, erklärt sich durch die längere Dauer des Abdominaltyphus.

Für jede einzelne Krankheit haben die individuellen Zahlen jedes Falles vergleichende Bedeutung zur Bewertung der Schwere des Falles für die Prognostik und für die Therapie.

Das Messen der Größe der thermometrischen Belastung oder der Zahl der TE wird durch das einfache Zusammenzählen der „Tages"-rechtecke zwischen der geraden Linie der normalen t° (37°) und der gebrochenen Linie der t°-Kurve erzielt. Zuerst zählt man ganze Rechtecke zusammen und dann die unvollkommenen Randrechtecke: die linken, die rechten und die obersten. Um das Zusammenzählen zu erleichtern, führt man immer die Temperaturkurve durch die Kreuzungspunkte der senkrechten und wagerechten Linien des t°-Netzes. Dann wird jedes Rechteck in 2 gleiche Teile oder in der Beziehung 3 : 1 geteilt.

Wenn man jetzt annimmt, daß, je nachdem die t° höher wird, auch der Grad des Einflusses derselben auf den Organismus wächst, so kann man schematisch die t° nach ihrer Höhe in folgende 5 Gruppen teilen: 1) 37—38°, 2) 38—39°, 3) 39—40°, 4) 40—41° und 5) 41° und mehr. Die thermometrische Belastung der 2. Gruppe bei derselben Zahl der Grad-Tage oder TE ist zweifellos größer als der ersten, sagen wir, q-mal größer (wobei q größer als 1 ist), usw. Wenn wir diesen unbekannten Quotient q nennen, so erhalten wir die Formel der schematischen thermometrischen Belastung: $a + bq + cq_, + dq_{,,} + eq_{,,,}$ usw., wobei q, $q_,$, $q_{,,}$, $q_{,,,}$ Quotiente für die 2., 3., 4. und 5. Gruppe sind.

Speziell für den 1. „Turm" der Febris recurrens lautet diese Formel (für einen typischen Mittelfall) $6 + 5q + 4,\ 5q_, + 2q_{,,} + q_{,,,}$ und für den 2. Turm $5 + 4q + 3,\ 5q_, + q_{,,} + 0q_{,,,}$; für beide Türme zusammen $II + 9q + 8q_, + 3q_{,,} + q_{,,,}$ oder in allgemeinen thermometrischen Einheiten: 32 TE. Diese Formel muß aber noch eine Ergänzung bekommen, denn besonders bei der Febris recurrens muß man auch „die negative Belastung" nicht außer Acht lassen, d. h. den Grad der t°-Erniedrigung unter 37°, oft bis 35—34°; den Quotient der negativen Belastung bezeichne ich mit Q. Dann ist die volle Formel der Febris recurrens: $II + 9q + 8q_, + 3q_{,,,} + q_{,,,} - (6 + 5Q)$.

Man kann die Formel der thermometrischen Belastung in verschiedener Weise analysieren: in ihrem ganzen Umfange (während des ganzen Fieberverlaufs), tagweise (bei remittierenden Fiebern), wochenweise (Abdominaltyphus), anfallsweise (Recurrens, Malaria etc.).

Für die wichtigsten Infektionskrankheiten habe ich folgende Durchschnittsformeln gefunden:

Abdominaltyphus	$23 + 19q + 14q_, + 3q_{,,} - (2 + Q)$
„ mit Komplikationen	$40 + 34q + 20q_, + 6q_{,,} - (5 + 3Q)$
Flecktyphus	$13 + 12q + 10q_, + 3q_{,,} - (4 + 2Q)$
Febris recurrens	$11 + 9q + 8q_, + 3q_{,,} + q_{,,,} - (6 + 5Q)$
Scharlach	$10 + 6q + 4q_, + q_{,,}$
Masern	$6 + 5q + 2q_,$
Pocken	$12 + 8q + 3q_, + 0{,}5q_{,,}$
Erisypelas	$8 + 8q + 5q_. + 1{,}5q_{,,}$
Febris quotidiana	$n(0{,}75 + 0{,}5q + 0{,}3q_, + 0{,}25_{,,} + 0{,}15q_{,,,})$
„ tertiana	$n(0{,}5 + 0{,}3q + 0{,}25q_, + 0{,}15q_{,,}) : 2$
„ quartana	$n(1 + 0{,}5q + 0{,}3q_, + 0{,}2q_{,,}) : 3$
Hektisches Fieber	$n(0{,}5 + 0{,}25q + 0{,}1q_,)$

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es genügt, diese Zahlen durchzumustern (und z. B. die 3 Malariaformen zu vergleichen), um zur Ueberzeugung zu kommen, daß sie eine neue Möglichkeit des mathematischen Studiums der Fieberfrage eröffnen, besonders wenn man die thermometrische Belastung gleichzeitig mit anderen zahlenmäßigen klinischen Materialen studiert (Puls, Atmung, Stoffwechsel, Gewicht, Urin usw.).

Den Grad der Belastung kann man mathematisch mit dem Gewicht eines Kegels vergleichen, welcher auf die Spitze, mit der Basis nach oben, gestellt ist. Die Belastung der Unterlage (z. B. einer Wagschale) ist desto größer, je größer die Höhe des Kegels und des Radius ihrer Basis sind. Das Volumen und die ihm proportionelle Masse des Kegels werden durch die Formel $\frac{\pi R^2 \cdot H}{3}$ bestimmt; folglich verhalten sich die Massen verschiedener Kegel wie $R^2H : R'^2 \cdot H' : R''^2 H''$ etc. Die Größe R entspricht der Schwere der Reaktion jedes Kranken auf seine hohe t^0, die Größe H der t^0-Höhe. Die Schwere verschiedener Krankheiten bei verschiedenen Kranken kann man durch Kegel von entsprechend großem Radius und Höhe darstellen. Bei demselben Kranken und bei einer bestimmten Krankheit ist der Grad der Belastung dem Kubikwert der Höhe, d. h. H^3, proportionell. In der Tat, $\frac{R}{r} = \frac{H}{h}$, oder $r = \frac{Rh}{H}$, aber, wie gesagt, verhalten sich die Massen der ganzen Kegel mit der Höhe **H** zum Kegelabschnitt mit der Höhe **h**, wie $R^2H : r^2h$; wenn man anstatt r in diese Formel seinen Wert $\frac{Rh}{H}$ hineinbringt, erhält man $R^2 \cdot H \cdot H^2 : R^2 \cdot h^2 \cdot h$ oder $H^3 : h^3$.

Die weitere Analyse dieser Formeln wird nach den Regeln der höheren Mathematik ausgeführt.

Schluß. Meine einfachen Formeln der thermometrischen Belastung bei Infektionskrankheiten geben eine Möglichkeit eines genauen Vergleiches verschiedener Fälle derselben Krankheit und ihrer Registrierung ihres späteren Studiums auch ohne Temperaturkurven, was von praktischem Werte ist.

Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Aufnahmebedingungen
für das Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Die Manuskripte müssen **druckfertig** eingesandt werden. Notwendig werdende Umarbeitungen und Korrekturen können auf Wunsch durch die Redaktion gegen entsprechende Vergütung besorgt werden.

Arbeiten, welche den Umfang von $2^1/_2$ bis 3 Druckbogen überschreiten, müssen vorläufig von der Aufnahme ausgeschlossen werden, falls die Verff. die Herstellungskosten für den obige Bogenzahl übersteigenden Text nicht zu tragen bereit sind. Auch können **Tafeln, Textfiguren, Kurven, Tabellen** usw. nur beigegeben werden, wenn die diesbezüglichen Herstellungskosten von den Autoren getragen werden. Für **zurückverlangte Manuskripte** ist das zur Rücksendung nötige Porto an die Redaktion vorher einzusenden, desgleichen ist bei **allen Anfragen an die Redaktion** das Rückporto beizufügen. Der **Empfang eingesandter Manuskripte** wird in Zukunft am Schlusse einer Nummer bestätigt.

Eingegangen sind: Originalarbeiten von

Prof. Dr. Zlatogoroff in Petersburg,
Geheimrat Prof. Dr. Pfeiffer in Breslau,
Dr. Saul in Berlin,
Dr. Yamaguti in Formosa (Japan),
Prof. Dr. Friedberger in Greifswald,
Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Nocht in Hamburg,
Prof. Dr. Aujeszky in Budapest,
„ „ E. Gildemeister in Berlin,
Dr. Ilchun Yu in Potsdam,
Dr. Fr. Reichert in Jena,
Prof. Dr. Leon in Jassy,
„ „ Flu in Leiden,
Dr. Rud. Oehler in Frankfurt a. M.,
„ v. Niessen in Dresden,
„ Lichtenstein in Berlin,
Prof. Dr. Fukukara in Osaka,
Dr. Sütterlin in Moskau.
„ Hermann Dostal in Berlin-Lichterf.
„ Gerhard Wagner in Danzig.

Inhalt.

Amato, Alessandro, Untersuchungen über Scharlach, S. 229.
Arai, K., Experimentelle Studien über die Ausscheidungswege der Paratyphus B-Bazillen im Körper der Organismen, S. 212.
Breinl, F., u. Fischer, M., Variationserscheinungen bei Staphylococcus pyogenes aureus, S. 224.
Breitmann, M. J., Eine Methode der quantitativen Messung der thermometrischen Belastung bei Infektionskrankheiten, S. 301.
Csontos, Josef, Der Hühnertyphus und seine Bekämpfung, S. 264.
Hage, Das Fortbestehen der Gruber-Widalschen Reaktion nach Typhusschutzimpfungen, S. 209.
Hesselbach, Kurt, Entgegnung auf die Bemerkung von Prof. Martin Mayer zu der Arbeit von Kurt Hesselbach: Die trypanozide Wirkung von „Bayer 205" auf Trypanosoma equiperdum, S. 271.
Konrádi, Daniel, Die Tätigkeit der Sektion im Jahre 1921, S. 299.
Kotlán, A., Ueber Sparganum Raillieti Rátz und den zugehörigen geschlechtsreifen Bandwurm Dibothriocephalus Raillieti Rátz. Mit 9 Abbildungen im Text, S. 272.
Mayer, Martin, u. Höppli, R., Ueber eine menschliche Infektion mit einem Bakterium aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie (Pasteurellose), S. 241.
Moschkowski, Sch., Eine einfache Methode zur Schnellfärbung von Blut und Blutparasiten, S. 296.
Olitzki, Leo, Bericht über den Verlauf einer Y-Ruhrepidemie in der städtischen Heilanstalt für Nerven- und Gemütskranke zu Breslau, S. 262.
Prausnitz, Carl, u. Stern, Margarete, Beiträge zum Wesen der Wassermannschen Reaktion, S. 246.
Salus, G., u. Hirn, Georg, Zur Wasserbegutachtung und zur Coli-Biologie, S. 286.
Schneider, Martin, Zur Kasuistik der Ulcera ad genitale, S. 261.
Yoshioka, Masaaki, Ein Paratyphus A-Bazillus ohne Gasbildungsvermögen, S. 219.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 90. Heft 5.

Ausgegeben am 28. Juni 1923.

Nachdruck verboten.

Bacillus mycophagus, nova species, ein bewegliches pathogenes Kapselbakterium.

[Aus dem Physiologischen Institut der Sächsichen Tierärztlichen Hochschule zu Dresden (Dir.: Geh. Rat. Professor Dr. Ellenberger).]

Von **A. Hopffe** und **I. Hartmann.**

Mit 1 Abbildung im Text.

Im Dezember 1921 erhielten wir verschimmeltes Malzkeimstaubpulver, welches zahlreiche Vergiftungsfälle in einem Rinderbestand gezeitigt hatte.

Ueber die nähere Krankheitsgeschichte dieser Vergiftungen, die Ergebnisse der mykologischen und der allgemein bakteriologischen Untersuchung des Futtermittels ist von uns beiden an anderer Stelle berichtet worden (1), desgleichen über die Fütterungsversuche mit reingezüchteten Organismen dieses Futtermittels an Kleintiere. Zusammenfassend sei nur wiederholt, daß die Fütterungen von 3 aus dem Futtermittel stammenden Penicillium-Arten, einer wärmeliebenden Aspergillus-Art, sowie von einem Cladosporium sich als völlig unschädlich erwiesen.

Die Reinkulturen der in dem Futtermittel vorhandenen Mucor-Arten gelangen zunächst nicht, da dieselben auch in diesem Falle von einem coliähnlichen Kurzstäbchen nicht zu trennen waren, weil dieses Bakterium innig mit ihnen vergesellschaftet war.

Dem anscheinend parasitischen Verhalten des Kurzstäbchens zu den Mucor-Arten gedenken wir weitere Untersuchungen zu widmen. Zunächst mußte es unser Bestreben sein, das Bakterium rein zu erhalten, was erst nach langwierigen Abimpfungen, sowohl aus Anreicherungen in Suspensionsflüssigkeit (schwache Nährbouillon), als auch aus den Rohkulturen des Futtermittels sowie auch aus erkrankten Mucor-Kolonien gelang. Ferner gewannen wir den Bazillus aus dem Blut und den inneren Organen von Tieren wieder, die es subkutan oder durch Fütterung aufgenommen hatten. Endlich züchteten wir es aus den inneren Organen zweier Meerschweinchen, die das Ausgangsmaterial (Malzkeimstaubpulver) in mehrwöchiger Fütterung erhalten hatten.

Diese Arbeit war langdauernd, da das Bakterium in Größe und Form sehr variabel ist, und demzufolge anfangs immer erneut an der Reinheit der Kulturen zweifeln ließ. Erst als wir Probeentnahmen aus Kulturen auf Glyzerinagarplatten mit wäßrigem Methylenblau färbten, ergab sich, daß das Kurzstäbchen, gleichviel, ob es fast Kokkenform oder einige Länge zeigte, von einer scharf begrenzten, breiten Kapsel umgeben war, in der es oft in Diploform lagerte. Die gleiche Eigenschaft zeigte auch aus anderen Nährböden die Boni-Czaplewskische Färbung, Ausstrich in Eiweißglyzerin, Färbung mit Karbolgentiana, Fixieren in 1-proz. Chromsäure.

Wir glaubten nunmehr, ein Kapselbakterium der Friedländer-Gruppe vor uns zu haben und gedachten es zu identifizieren oder in

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vergleich zu stellen mit einem von Mießner und Lange (2) ebenfalls in Futtermitteln (Fischmehlen) zuerst aufgefundenen und Diplobacillus capsulatus benannten Bakterium. Collin hat dasselbe näher bearbeitet (3). Durch die Freundlichkeit des Herrn Prof. Mießner, dem wir unseren besonderen Dank auch hierdurch abstatten, erhielten wir eine Reinkultur dieses Organismus und konnten ihn mit unserem hinsichtlich seines kulturellen Verhaltens beobachten. Dem Direktor des Pathologischen Instituts der Dresdner Tierärztlichen Hochschule, Herrn Obermedizinalrat Prof. Dr. Joest und den Assistenten dieses Institutes, Herren Dr. Finger und Dr. Schmidt, sind wir für die Vornahme einiger Sektionen verendeter Versuchstiere zu besonderem Danke verpflichtet.

Die Betrachtung hängender Tropfen ergab immer erneut, daß unser Kurzstäbchen lebhaft beweglich war. Hierdurch unterscheidet es sich grundlegend von den untereinander sehr ähnlichen Bakterien der Gruppe des Bacterium pneumoniae Friedländer, der auch das eben erwähnte, von Mießner und Lange aufgefundenen Bakterium zugehört.

Nach der Art der Bewegung ist seine polare Begeißelung zu vermuten. Leider ist uns, vielleicht nur durch die beschränkten Hilfsmittel, die die wissenschaftliche Not der Zeit mit sich bringt, eine Geißelfärbung bisher trotz Anwendung verschiedener bewährter Methoden nicht geglückt.

Sollte die Begeißelung monotrich sein, so würde nach der von Benecke (4) gegebenen Bakteriensystematik der neue Organismus zur Gattung Pseudomonas zu stellen sein.

Vielleicht ergibt die Lösung der Begeißelungsfrage auch einen Schlüssel für die systematische Zugehörigkeit der Friedländer-Bakterien.

Wir lassen zunächst eine Schilderung seiner Eigenschaften folgen, sowie die Versuche bezüglich seiner Pathogenität, Form und Größe, Beweglichkeit, Färbbarkeit.

Das aus Malzkeimstaubpulver isolierte Bakterium zeigt wechselnde Form und Größe, sehr oft ist es kurz, kokkenförmig und dann oft zu zweien gelagert, oft auch ein mäßig langes Stäbchen.

Aus jugendlichen Kolonien entnommen, sind die Organismen meist kokkenähnlich und zunächst hüllenlos. Die Kapselbildung bereitet sich durch ein Auseinanderrücken der Organismen vor, so daß dieselben gefärbt in den Ausstrichpräparaten in großer Regelmäßigkeit durch schmale, wasserhelle Zwischenräume getrennt sind.

Aus 2—4 Tage alten Kulturen entnommen und mit wäßrigem Methylenblau oder nach Boni-Czaplewski gefärbt, ist der Organismus von einer breiten, hellen, wenig angefärbten, meist jedoch ungefärbten Kapsel umgeben. Die Form der Kapsel entspricht dem Organismus; sie ist fast kugelrund bei der häufigen Kokkenform; zeigt zuweilen Semmelform bei Diplokokken und ist mehr oder weniger langgestreckt, wenn sie Kurzstäbchen enthält; an den Enden ist die Kapsel gerundet oder mäßig zugespitzt. Nicht selten finden sich in älteren Kulturen leere Kapselhüllen. Sporen wurden nicht beobachtet. Sowohl die kapsellose Jugendform wie das bekapselte Bakterium ist lebhaft beweglich. Die Organismen schießen mückenschwarmähnlich durcheinander. An Organismen, die infolge der mechanischen Behinderung am Tropfenrande träger beweglich sind, ist die Kapsel deutlich zu sichten, die hell den etwas dunkleren Bakterienleib umgibt. Die Kapsel ist also „echt", wird

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nicht durch Fixierung oder Färbemethode vorgetäuscht, wie dies neuerdings wieder sogar für den Milzbrandbazillus behauptet wird (5).

Dieses Bakterium ist mit der von Ziehl-Neelsen für Tuberkelbazillen angewendeten Methode färbbar, d. h. säurefest, und zwar in verschieden hohem Grade, je nach dem Nährboden, auf dem es kultiviert wurde (vgl. spätere Hinweise).

Der Gramschen Färbung gegenüber verhalten sich die Bakterien sowohl aus Kulturen wie auch aus Blut- und Organabstrichen negativ. Mit basischen Anilinfarben, besonders wäßrigem Methylenblau, ist der Organismus leicht färbbar, mit karbolsäurehaltigen Farben behandelt, ist die Kapsel nicht sichtbar.

Zur Hervorhebung dieser schwachen Färbungen bedienten wir uns eines von A. Herzog, Dresden, hergestellten Speziallichtfilters, das zurzeit von den Lifa-Werken in Augsburg hergestellt wird. Die Eigenfarbe des Filters, in der naturgemäß auch der Untergrund des mikroskopischen Gesichtsfeldes erscheint, ist bei Benützung künstlicher Lichtquellen hellviolett; sie wirkt auch bei langandauernder mikroskopischer Arbeit in keiner Weise ermüdend [1]).

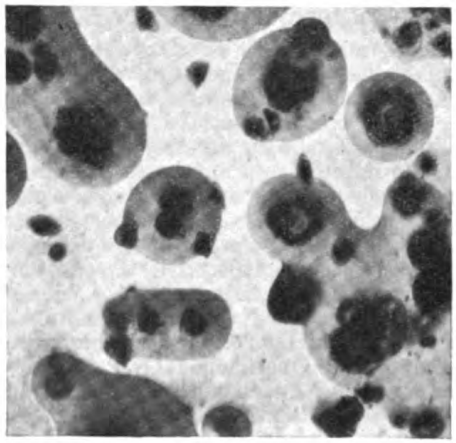


Fig. 1. Durchlichtungsaufnahme einer 5-tägigen Kultur von Bacillus mycophagus auf Glyzerinnähragar (konfluierende schleimumgebene Oberflächenkolonien und spindelförmige und dreieckige Tiefenkolonien). 4 × Vergr.

I. Kulturelles Verhalten.

Zur Kultur eignen sich nur Nährböden mit neutraler bis alkalischer und ganz schwach saurer Reaktion. Die nachstehenden Kulturangaben beziehen sich auf einen aus dem Ileum eines Kaninchens (No. 2, s. S. 310) erzogenen Stamm des Bakteriums, der als Arbeitsstamm verwendet wurde, doch zeigten die aus dem Futtermittel gewonnenen Stämme gleiches Verhalten. Die aus dem Blut und den inneren Organen (ausgenommen Darm), von Meerschweinchen und Mäusen gezüchteten Stämmen zeigten geringe Abweichungen, als deren Beispiel ein aus dem Herzblut einer Maus (3) gewonnener Stamm vergleichsweise nachstehend angegeben ist. Wo nicht beide genannt, beziehen sich die Angaben auf den Ileumstamm.

Wachstum auf Glyzerinagarplatten.

Aussehen der Kolonien: Das beste Wachstum zeigt unser bewegliches Kapselbakterium auf Glyzerinagarplatten. Dieselben bedecken sich, bei einer Temp. von 18—37 ° C gehalten, schon nach 45 Std. an der Oberfläche mit schleimigen, wasserhellen bis weißlichen, runden Kolonien, die sich mit Schleimmassen umgeben, welche oft konfluieren, so daß mehrere aus konzentrischen Ringen gebildete Kolonien von einer gemeinsamen Schleimhülle umgeben sind. Die Kolonien sind weißlich, in der Durchsicht dunkel, die Schleimzone wasserhell, später gelblich. Schließlich bilden sich allgemeine Schleimdecken, die sahne- bis butter-

1) Nach einer privaten Mitteilung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gelbe Farbe annehmen. Der Schleim ist nicht fadenziehend, sondern von sahneartiger Konsistenz[1]). Tiefenkolonien sind braunschwarz, undurchsichtig, spindelförmig, stets glattrandig. Auf Schrägflächen von Glyzerinagar sinkt der Schleim zur Kuppe des Röhrchens hinab. Der Nährboden wird allmählich völlig aufgezehrt, so daß nur der gelbe Schleim den untersten Teil des Reagenzglases füllt. Die diesem Nährboden entnommenen Bakterien sind, nach Ziehl-Neelsen gefärbt, ausgesprochen positiv, während sie bei durchaus gleicher Behandlung in bezug auf Farbstoffstärke, Färbezeit und Säurespülung, aus Nähragar- und Laktoseagarkulturen entnommen, wesentlich schwächer gefärbt sind. Es bestätigt sich somit auch hier die Erfahrung (6), daß fetthaltige Nährböden die Säurefestigkeit stärken bzw. hervorrufen; vielleicht ist das auch ein physiologischer Grund für das ausgesprochen gute Wachstum auf Glyzerinagar.

Der Zusatz von Glyzerin zu den Nährböden ist somit zur Isolierung des Bakteriums und zur Anreicherung in Mischkulturen zu verwenden.

Wachstum auf Gelatine: In Gelatineplatten sind die Kolonien schlechter zu sichten; das Wachstum der Oberflächenkolonien ist erhaben, gelb glänzend, aber wenig charakteristisch. Die Gelatine wird nicht verflüssigt (Beobachtung monatelang).

In Gelatinestichkultur ist der Stichkanal kaum zu erkennen, auch nach längerer Zeit. An der Oberfläche bildet sich eine harte, weißliche Decke, die 1,2 mm Höhe erreicht und später buttergelb wird. In der Tiefe sind fast alle Bazillen kapsellos. manche zeigen einen einseitigen Anhang, der wohl als Beginn der Kapselbildung zu denken ist, in der gelben Oberflächendecke finden sich auch bekapselte Individuen. Die Bewegung der aus den Tiefenkolonien entnommenen Bakterien im hängenden Tropfen ist lebhaft. Die kapsellosen Bakterien, auf Glyzerinagar übertragen, ergeben in der üblichen Zeit typisches Wachstum bekapselter Bakterien. Die Ueppigkeit des Wachstums auf Nähragar steht ebenfalls demjenigen auf Glyzerinagar nach. Auf Nähragarplatten zeigen sich gelb-grauweiße, glänzende, runde, etwas erhabene, bis 4 mm große Oberflächenkolonien, die bei 60:1 Vergrößerung gesichtet, aus konzentrisch angeordneten, nach außen heller werdenden Zonen bestehen. Der Rand ist glatt. Die tiefer liegenden Kolonien sind dunkler gefärbt, rundlich bis wetzsteinförmig. Agarstrichkulturen zeigen nach Monaten stark gelb gefärbte Kolonien. Im Agarstich ist der Stichkanal bis zur Tiefe bewachsen, die Oberfläche anfangs zart gelblich-weiß glänzend, bis zum Glasrand bewachsen, wird später stark gelbschleimig und zehrt allmählich den Nährboden mehrere Zentimeter tief auf.

Wachstum in Fleischbrühe: 4 Tage bei 37° C gehalten, bildet sich auf der Oberfläche eine zarte Decke, deren feine Bröckelchen beim Bewegen des Reagenzglases untersinken. Die Flüssigkeit ist leicht getrübt und enthält sehr bewegliche Bakterien; es sind unbekapselte Coccobazillen, vereinzelt zeigen sich Kapseln, meist Diplokokken enthaltend. Schwefelwasserstoff wird nicht gebildet. Das Wachstum in Peptonwasser ist das gleiche. Die Prüfung auf Indolbildung fiel negativ aus. Wachstum auf Kartoffel: Der Impfstrich bewächst mit schwefelgelben, wellig berandetem, wenig erhabenem, anfangs feuchtglänzendem Belag, der später trocken und krümelig wird. Die Kurzstäbchen sind hüllenlos. Auf Glyzerinagar übertragen, bekapseln sie sich in der üblichen Zeit.

Wachstum auf zuckerhaltigen Nährböden. Gärvermögen. Säurebildung.

In Traubenzuckeragar-Schüttelkultur erfolgt Vergärung und Zerklüftung des Nährbodens durch Gasbildung. In 2-proz. Traubenzuckerbouillon im Gärkölbchen sammelt sich im geschlossenen Schenkel bei Bruttemperatur reichlich Gas(Kohlensäure). Das Wachstum in Traubenzuckeragar steht ebenfalls dem auf Glyzerinagar zurück. Im Traubenzuckeragarstich bildet sich an der Oberfläche eine zarte, weißlich-graue Auflage. Der Nährboden ist von Gasblasen zerklüftet, besonders im unteren Fünftel und zum Teil emporgehoben. Die Färbepräparate aus Dextroseagarkulturen sowie aus anderen zuckerhaltigen Nährböden zeigen vorwiegend relativ große, langgestreckte Formen.

1) Nur bei der Abimpfung aus einer längere Zeit aufbewahrten Kultur des Kapselbakteriums, welche einer Meerschweinchenlunge (No. 2) enstammte, war der Schleim fadenziehend, bei weiterer Uebertragung verlor sich diese anormale Erscheinung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei den in Diploform anwesenden Individuen ist die Kapsel oft in der Mitte eingeschnürt (Semmelform).

Traubenzuckerlackmusagar: Ileumstamm gelblich erhaben, üppig gewachsen. Nährboden etwas gerötet (rotviolett). Mäuseherzstamm: grau glänzend, üppig bewachsen, stärker gerötet. Gasbildung bei beiden Stämmen gering. Lackmusrohrzuckeragar wird anfangs rotviolett, später rot gefärbt. Der Ileumstamm wächst gelblich, der Mäuseherzstamm weiß-grau bei stärker gerötetem Nährboden. Es erfolgt Gasbildung. In Milchzuckeragar ist die Auflagekolonie etwas zarter als bei Traubenzuckeragar und die Gasbildung ist geringer. Lackmusmilchzuckeragar: Dem Aufstrich entlang üppiges gelbliches Wachstum, Nährboden rötlich gefärbt. Gasbildung etwas geringer als bei Dextrose.

Auf einem Nährboden von Mannit-Agar 2 Proz., Dikaliumphosphat 0,02 Proz., Magnesiumsulfat 0,02 Proz. und Kochsalz 0,3 Proz., also eiweißarm, wuchsen halbkugelige, erhabene, glänzende, weiße Kolonien kapselloser Bakterien aus, die, auf Glyzerinagar zurückgebracht, sich in der üblichen Zeit bekapselten.

Der gleiche Nährboden ohne Magnesiumsulfat zeigt nur sehr spärlich zarte, tautröpfchenförmige Oberflächenansiedlungen und in der Durchsicht dunkle Tiefenkolonien in Wetzstein-, Dreieck- und Herzform. Ein Färbepräparat dieser Tiefenkolonie zeigt gut färbbare, umkapselte Bakterien.

Lackmusmannitagar: Ileumstamm. Der Nährboden wird gerötet. Gasbildung. In Schrägkulturen füllt sich die Reagensglaskuppe allmählich reichlich mit dickem, gelben Schleim, Mannit erwies sich somit als gutes Nährmittel. Herzstamm Maus 2: stark gerötet, aber grau bewachsen und nicht herabfließender Schleim.

Lackmusmaltoseagar: Der Nährboden wird gerötet, der Zucker vergoren, Gasbildung. Ileumstamm: gelbliche, üppige Auflage herab zur Kuppe geflossen. Mäuseherz-Stamm graue Auflage und nicht herabgeflossen.

Blutagar: Das Wachstum ist weniger üppig als auf Glyzerinagar. Zarte, blasse, wenig charakteristische Kolonien mit Ausbuchtungen. Hämolyse findet nicht statt. Serumagar: Die Impfstriche sind stark gelb, glänzend erhaben, gut bewachsen.

Lackmusmilchzucker: Nach v. Drigalski und Conradi: Auf den Platten sind die Impfstriche mit sehr breiten, raupenartigen, erhabenen, anfangs grau-weißen, feucht glänzenden, später gelblichen Anflagen bewachsen. Anfangs ist der Nährboden nur in deren Umgebung, nach dreitägiger Kultur bei 20° C über die ganze Oberfläche blaß gerötet.

Fuchsinmilchzuckeragar nach Endo: Auch hier sind die Ausstriche gut mit erhabenen glänzenden Raupen bewachsen. Der Nährboden ist anfangs in der Umgebung des Aufstrichs, später allgemein gerötet. Das mikroskopische Bild zeigt den Organismus zum Teil in unbekapselter Kokkenform, zum Teil bekapselt. Neutralrotagar bleibt unverändert, der Impfstrich ist rosa erhaben, feuchtglänzend bewachsen. Malachitgrünagar: Der Nährboden ist verblaßt, die Impfstriche sind mäßig bewachsen und zeigen die Farbe des ursprünglichen Nährbodens. In Milch vermehren sich die Organismen nur langsam. Die Reaktion derselben wird nur schwach sauer und erst nach 13 Tagen tritt, bei 36° C gehalten, gallertartige Gerinnung ein, ohne daß die Säure merklich zunimmt. Die Organismen sind weitaus vorwiegend hüllenlos, auch bei der Färbung nach Boni-Czaplewski, und zwar sowohl bei Uebertragung kapselloser Jugendformen, als auch bei Ueberimpfung bekapselter Individuen in die Milch. Aus der Milch auf Glyzerinagar zurück übertragen, regenerieren sie nach zweitägiger Kultur ihre Hülle. Lackmusmolke wird leicht getrübt und innerhalb 24 Std. schwach gerötet, vom 4. Tage ab jedoch wieder leicht bläulich.

Aërobes und anaërobes Verhalten: Unter streng anaëroben Verhältnissen findet kein Wachstum statt. Bedeckt man z. B. in einer frisch beimpften Glyzerinagarplatte den eben geronnenen Nährboden zum Teil mit einer sterilen Glimmerplatte, so findet unter derselben kein Wachstum statt. Die Wachstumsgrenze verläuft scharf den Kanten der Glimmerplatte entlang. In Stichkulturen nach Buchner, Sauerstoffabsorption durch Pyrogallussäure und Kalilauge, blieb das Wachstum aus. Bei Zusatz von Traubenzucker oder Glyzerin wächst der Bazillus ohne Ueberschichtung im Tiefstich, bei flacher Ueberschichtung hebt etwas Gasbildung in der Dextroseröhre die Decke empor, sichtliches Wachstum findet nicht statt. Anfangs unter aëroben Verhältnissen gezüchtet, gedeiht Bac. mycophagus bei Sauerstoffabschluß eine Zeitlang weiter.

Verhalten gegen Wärme und Licht: Das Wachstumsoptimum liegt bei 35° C. Gegen hohe Temperaturen ist der Bazillus wenig widerstandsfähig. Nach der Beimpfung 20′ auf 55° C erwärmt, findet kein typisches Wachstum mehr statt. Gegen Licht, sogar gegen direkte Sonnenstrahlung dagegen ist der Bazillus außerordentlich resistent. Mehrere Wochen dem freien Tageslicht einschließlich der zeitweisen Sonnenbestrahlung ausgesetzte Kulturen litten keinen Schaden hinsichtlich des Wachstums und der Kapselbildung. Anaërob verschlossen, nach vorangegangener aërober Züchtung, war der Bacillus nach 7 Monaten noch lebensfähig.

Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

II. Pathogenität, Fütterungen und Injektionen.

I. Fütterung. Mit der zuerst erhaltenen Reinkultur (St. II) werden am 7. III. 22 2 Kanin und 1 Meerschweinchen zusammen mit 3 Kammern 48 Std. alter Kulturen auf Glyzerinagar-Nährboden, auf Brot gestrichen, gefüttert. Aus dem nach 1—2 Tagen abgesetzten Kot der Tiere wächst das Kapselbakterium neben anderen Bakterien in zahlreichen Kolonien. Auch in Färbepräparaten von der Oberfläche ist es fast stets zu sichten.

Kaninchen 1 verwirft am 12. III. 22 (Feten fast ausgetragen) und verendet am 17. III. 22. Die Sektion ergibt eine katarrhalische Magendarmentzündung und leichte parenchymatöse Nephritis. Da uns zu dieser Zeit noch nicht bekannt war, daß wir es mit einem Kapselbakterium zu tun hatten, gelang es uns nicht, mit Sicherheit das Bakterium in den inneren Organen und im Blute nachzuweisen. Infolge besonderer Umstände konnten Aufstrichkulturen nicht angesetzt werden.

Kaninchen 2, ein sehr starkes Tier, kränkelt gegen Ende März, verweigert oft die Nahrung und sucht sich einige ihm zusagende Hälmchen aus dem gereichten Heu. Exitus 29. III. 22. Sektion: Katarrhalische Dickdarmentzündung, partielle Magenentzündung (an einer umschriebenen Stelle), leichte Herzmuskeldegeneration, leichter Milztumor, Lunge sinkt im Wasser unter. Eitrige Pneumonie (kleine gelbweiße, bis 2 mm große, harte Knötchen). In den Aufstrichen dieser Knötchen auf Glyzerinschrägagar wachsen reichlich, aus denen der Dickdarmschleimhaut vereinzelt Kapselbakterien; besonders reichlich und schön bewachsen die dem Ileum entnommenen Aufstriche, aus denen das Bakterium in Reinkultur gezüchtet wird. Es ist dies der Ileumstamm, der vorwiegend zur Darstellung des kulturellen Verhaltens verwendet wurde. Die Bakterien sind bis zum 3. Tage kapsellose, coliähnliche Kurzstäbchen; vom 4. Tage an rücken sie auseinander, so daß sie in den Ausstrichen durch kleine helle Zwischenräume getrennt sind. 5 Tage alte Kulturen zeigen vorwiegend bekapselte Individuen. Nicht selten findet man „leere" Kapseln, d. h. ohne einen gefärbten Organismenkern. Die Koloniebildung ist die typische.

Meerschweinchen 1. Exitus 23. III. 23. Sektion: Keine Veränderungen der inneren Organe. In Aufstrichen aus Magen und Darm wachsen die Kapselbakterien reichlich.

II. Fütterung. 3 Meerschweinchen erhalten in gemeinsamer Fütterung am 2. IV. 22 eine Kammer Stamm II und eine Kammer Stamm IV, je in 5 Tage alter Kultur auf Glyzerinagar, die also vorwiegend bekapselte Bakterien enthielten. In Rohkulturen des 24—36 Std. nach der Fütterung abgesetzen Kotes wachsen zahlreiche Kolonien des Kapselbakteriums.

Meerschweinchen 2. Dem Tiere wird am 11. IV. 22 am Ohr Blut entnommen, in dessen direkten Ausstrichen vereinzelt das bekapselte Bakterium zu sichten ist. Jedoch erst am 12. V. 22 erkrankt das Tier (Lähmungen der Nachhand). Exitus 21. V. Sektion: leichte Gastroenteritis. Herzerweiterung. Beim Zerlegen der Lunge finden sich einige kleine ($^1/_2$ mm große), gelbliche, hirsekornartige Knötchen. Ein Quetschpräparat derselben, mit Methylenblau gefärbt, zeigt die Kapselbakterien reichlich. Schrägagarkulturen, aus Lunge, Ileum und Coecum aufgestrichen, bewachsen in 48 Std. mit dem Kapselbakterium.

Meerschweinchen 3. Lähmungen und Tod an den gleichen Tagen wie beim vorigen Tier (12. V. und 21. V.). Sektion: Gastroenteritis. Lunge mit hirsekornartigen Knötchen, in deren direkten Ausstrichen, wie auch in dem Herzblut, das Kapselbakterium nachzuweisen ist. In Aufstrichen von Lunge, Ileumschleimhaut und Ileuminhalt wachsen nach 24 Std. die Kapselbakterien.

Meerschweinchen 4. Lähmung der Hinterfüße am 21. V. 22. Exitus 29. V. 22. Sektion: Starke Herzerweiterung. Degeneration der Niere. In Aufstrichen von Lunge und Ileum auf Glyzerinagar wachsen nach 24 Std. die Kapselbakterien. Die aus Lunge werden rein gezüchtet, auf Beweglichkeit geprüft und später zur Fütterung IV verwendet.

I. Injektion: Am 1. VIII. 22 werden 2 weiße Mäuse und 1 Meerschweinchen subkutan inguinal geimpft. Die Mäuse erhalten je 1 Oese Bakterien des Stammes I in $^1/_2$ ccm physiolog. Kochsalzlösung, das Meerschwein 2 Oesen gleicher Herkunft in 1 ccm aufgeschwemmt. Maus 1 und 2 bleiben bis Ende August gesund. Sie konnten leider nicht länger beobachtet werden. Meerschweinchen 5 bleibt zunächst gesund und wird zu Fütterung III weiter verwendet.

II. Injektion: 2 weiße Mäuse erhalten am 11. X. 22 je $^1/_2$ ccm physiol. Kochsalzlösung $^1/_2$ Oese einer Kultur, Kanin 2 Ileumstamm (14. Uebertragung auf Glyzerinagar, 4 Tage alt).

Maus 3 äußere Krankheitssymptome erst am 2. I. 23, Exitus 3. I. 23. Sektion: Sehr abgemagertes Tier, kräftige Konstitution, struppiges Haar. Impfstelle, Leber, Milz, Niere ohne Befund. In der Lunge einige stecknadelstichgroße, gelbliche Eiter-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stellen. Direkte Färbepräparate aus dem Herzblut zeigen zahlreich das Kapselbakterium, vorwiegend in Form langgestreckter, oft leerer Kapseln. Ausstriche aus dem Dickdarminhalt enthalten normal bekapselte Bakterien. Die Kulturaufstriche aus Herzblut ergeben das Bakterium (zunächst unbekapselt) fast in Reinkultur. Auch in Milz- und Lungenaufstrichen wächst der Organismus aus.

Maus 4 Exitus am 16. XII. 22. Auf Ausstrichen von Herzblut wächst das Bakterium nach 1tägiger Züchtung fast in Reinkultur, auch aus dem Darminhalt wurde es erhalten.

III. Fütterung. 2 Mäuse und 2 Meerschweine (darunter Tier 5 s. oben) erhalten am 11. X. 22 2 Kammern Kanin 2 Ileumstamm 14. Uebertragung, 4 Tage alt, und am 18. X. 22 nochmals 2 Glyzerinagarplatten einer 3 Tage alten Kultur Ileumstamm 15. Uebertragung.

Maus 5 äußere Krankheitssymptome am 29. XI. 22, Exitus in der Nacht zum 30. XI. 22. Sektion: Gut genährtes Tier, keine Veränderung der inneren Organe. In direkten Ausstrichen von Herzblut und Lunge zeigen sich plumpe Kurzstäbchen, im Dickdarminhalt sind Kapselbakterien zu sichten; sie werden daraus reingezüchtet, wachsen lebhaft gelbschleimig auf Glyzerinagar, sind bekapselt und schnell beweglich.

Von Milz und Herzaufstrichen wachsen die Kapselbakterien grauweiß. Sie werden aus dem Herzblut reingezüchtet und zur vergleichsweisen Schilderung des kulturellen Verhaltens herangezogen: Mäuseherz-Stamm.

Maus 6, besonders kräftiges Tier, bleibt gesund und wird zu Injektion III weiter verwendet.

Meerschweinchen 5. Injiziert am 1. VIII. 22, gefüttert am 11. X. 22 und 18. X. Exitus am 30. I. 23. Sektion: Innere Organe wenig verändert; kleine graue Herde in Leber und Milz. Lungenentzündung. In direkten Ausstrichen von Lunge und Leber Kapselbakterien (nicht deutlich) zu sichten. Aufstriche aus Lunge, Herz, Leber und Milz bewachsen nach 3 Tagen fast rein mit dem Kapselbakterium. In der Herzkultur fallen besonders viel Kapseln mit äquatorial gestelltem Organismus auf.

Meerschweinchen 6 bleibt gesund.

IV. Fütterung. 2 Meerschweine erhalten am 9. XII. 22, 2 Kammern, Meerschwein 4 Lungenstamm, neu übertragen am 4. XII., also 5 Tage alt, und am Impftage auf Beweglichkeit geprüft.

Meerschweinchen 7 ist Ende Jan. träge beweglich, verendet am 7. II. 23. Sektion: Stark abgemagert. In der Brusthöhle etwas Exsudat. Eine Lungenspitze gelblich durchsichtig, mit gallertartigem Infarkt. Herz und Milz ohne Befund, Nebenniere stark vergrößert. Direkte Ausstrichpräparate aus Herz und Niere zeigen das Kapselbakterium fast mit Sicherheit. Aus dem Herzblut wächst es in 18 Std. in Reinkultur.

Meerschweinchen 8 kränkelt Anfang März, zeigt gegen Ende dieses Monats allgemeine Lähmungserscheinungen, Exitus 3. IV. 23. Sektion: Stark abgemagertes Tier. Die Spitzen beider Lungen schwarz pigmentiert. Fettige Degeneration der Leber. Nebennieren etwas vergrößert. Im rechten Eierstock 2 große Zysten. Am Duodenum ein Geschwür und Perforation der Darmwand. In direkten Ausstrichen von Leber und Lunge Verdacht, im Herzblut und im Dünndarmgeschwür mit Sicherheit kokkenähnliche Kurzstäbchen, oft in Diploform verbunden mit Kapsel. In Aufstrichkulturen von Leber, Lunge, vor allem aber reichlich aus dem Herzblut und dem Duodenumgeschwür wächst das Kapselbakterium.

III. Injektion: 3 weiße Mäuse, darunter No. 6, erhalten am 17. I. 23 je 1 Oese in $^1/_2$ ccm physiol. Kochsalzlösung einer 5tägigen Kultur 3. Uebertragung von Maus-5-Herzstamm. (Am Impftage auf Beweglichkeit und Kapselbildung geprüft).

Maus 6, 7 und 8 bleiben gesund (bis 2. IV. 23), bei Maus 6 treten nach der Impfung anaphylaktische Erscheinungen nicht auf, trotzdem am Vortage das Vorhandensein des Kapselbakteriums im Blut durch Probeentnahme am Schwanz in direkten Ausstrichpräparaten und durch 18stündige Kultur bei 36° C nachgewiesen wurde.

V. Fütterung. Der 4. Teil einer Kulturplatte, der Material zu Injektion III entnommen, wird 2 Mäusen auf Semmel gestrichen am 17. I. 23 gereicht.

Maus 9 verendet am 16. IV. 23. Sektion: Ohne Befund der inneren Organe. In den Ausstrichen von Herz und Lunge kokkenähnliche und bekapselte Bazillen, letztere wachsen reichlich in Aufstrichkulturen.

Maus 10 bleibt bis 16. IV. 22 gesund.

VI. Fütterung. Endlich wird zum Abschluß unserer Versuche das Malzkeimstaubpulver, welches seit der Einsendung in kühlem Raume trocken gelagert hatte, an 2 Meerschweine gefüttert (vom 14. III. 23 täglich 20 g zusammen an beide Tiere). Die Fütterung mußte nach 14 Tagen abgebrochen werden, da die Tiere die weitere Aufnahme verweigerten.

Meerschweinchen 9 verendet in der Nacht vom 5. zum 6. III. 23. In direkten Ausstrichpräparaten von Herz und Lunge Verdacht auf Kapselbakterien, der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durch Wachstum in Aufstrichen aus Herz und Lunge bereits nach 18 Std. zur Gewißheit wird.

Meerschweinchen 10 verendet 11. zu 12. III. 23. Sektion: Entzündung der linken Lunge, großer Infarkt an der Spitze. Fettige Degeneration der Leber. Linke Nebenniere stark vergrößert. In Ausstrichen von Lunge und Herz Verdacht auf Kapselbakterien. Aufstrichkulturen aus Herz und Leber bewachsen in kurzer Zeit mit weißlichen und goldgelben Belägen. Erstere zeigen Kokken bzw. Kurzstäbchen oft in Diploform, die, wie gleichzeitig vorkommende bekapselte Individuen beweisen, unseren Kapselbakterien zugehören. Die gelben Beläge bestehen aus sehr kleinen Staphylokokken ähnlich gelagerten Kokken. Es scheint bei diesem Tier eine Mischinfektion des Kapselbakteriums mit einem goldgelben Staphylococcus vorzuliegen. Es wurde somit das Kapselbakterium aus dem Malzkeimstaubpulver auch durch Tierpassage isoliert.

Mit vorstehenden Versuchen glauben wir, die Pathogenität des beweglichen Kapselbakteriums nachgewiesen zu haben. Leider verbieten die zeitlichen Erschwernisse Versuche mit Rindern, so dringend wünschenswert dieselben wären. Die verschiedenartigen Erkrankungen der inneren Organe miteinander in Einklang zu bringen bzw. den klinischen Krankheitsverlauf aufzuklären, konnte nicht Aufgabe der Verfasser sein.

III. Systematische Stellung des Bacillus mycophagus n. sp.

Abel und Hallwachs (7) leiten ihre Monographie der Kapselbazillen mit dem Bemerken ein, daß der Besitz einer Kapsel zwar kein Kriterium einer bestimmten Bakteriengruppe sei, man sich aber gewöhnt habe, unter dem Namen Kapselbazillen diejenigen Bakterien zusammenzufassen, die sich durch eine „Schleimhülle“ auszeichnen und deren Prototyp der Bacillus pneumoniae Friedländer sei.

Als charakterisierende Eigenschaften dieser Bakteriengruppe führen die genannten Autoren an: die Hüllenbildung — kurze, plumpe Stäbchen, oft Kokkenbazillenform, wobei hin und wieder auch längere Stäbchen auftreten — die Unbeweglichkeit und damit die Abwesenheit von Geißeln — eine leichte Färbbarkeit mit den gebräuchlichen Anilinfarben — ein negatives Verhalten bei der Färbung nach Gram — Anspruchslosigkeit hinsichtlich der Nährböden — aërobes und anaërobes Gedeihen, jedoch besser unter aëroben Verhältnissen — Nichtverflüssigung der Gelatine — keine Indolbildung.

Alle diese Merkmale treffen auf Bacillus mycophagus nov. spec. zu, nur die Unbeweglichkeit und die Abwesenheit von Geißeln nicht. Gerade diese Eigenschaft wird aber von allen Autoren der Kapselbazillen besonders hervorgehoben. Abel und Hallwachs betonen sie nochmals (S. 517): „Stets und unter allen Bedingungen sind die Kapselbakterien unbeweglich und geißellos.“

Die Aehnlichkeit der Eigenschaften hat die meisten neueren Autoren bestimmt, die Gruppe der Kapselbazillen in Verbindung zu bringen mit dem Bacillus aërogenes Escherich, sei es daß sie denselben der Gruppe der Kapselbakterien einrechnen (so z. B. Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie), oder ihn beiordnen [z. B. Flügge (Die Mikroorganismen, 3. Aufl.) nennt sie Gruppe der lactis aërogenes und der Rhinosklerombazillen].

Auch hinsichtlich des Bacillus aërogenes wird von fast allen Autoren die Unbeweglichkeit als bezeichnendes Merkmal angegeben, ja direkt als Unterscheidungsmerkmal von der nahe verwandten Gruppe des Bacillus coli benutzt. Da nämlich kapsellose und auch sonst coliähnliche Variationen der Friedländer aërogenes-Bazillengruppe nicht selten sind, so wollen Kruse und Wilde (Lehmann und Neu-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie) in die eben genannte Gruppe alle diejenigen Bakterien aufgenommen wissen, die Coli-Eigenschaften haben, aber nicht beweglich sind.

Es sei hier eingeschaltet, daß soweit unsere Literaturkenntnis reicht, allein Jensen (8) den Bacillus aërogenes beweglich gefunden hat. Er habe mit einer Originalkultur Escherichs gearbeitet und nachgewiesen, daß er beweglich sei mit einer kleinen Anzahl Cilien. Im übrigen betont auch Jensen, daß Bacillus aërogenes eine Sammelgattung nahestehender Formen sei, die sich durch das Gärungsvermögen unterscheiden, und eine Sonderung von der Coli-Gruppe kaum möglich ist. —

Wenn wir andererseits bedenken, daß Formen der Coli-Gruppe oft träge beweglich, und unbewegliche Formen als „coli immobilis" nicht selten sind, so verstehen wir, wenn Wilde (9) die Beweglichkeit nicht als Unterscheidungsmerkmal zwischen der Coli-Gruppe und der Pneumoniae-aërogenes-Gruppe gelten lassen will, indem er schreibt, „wenn sich auch die Beweglichkeit als veränderliche Eigenschaft herausstellen sollte, wie es leicht möglich ist, so fällt jede Berechtigung der Trennung dieser beiden so nahe verwandten Gruppen fort. Dieselben sind dann zu einer einzigen zu vereinigen". Noch weitere Gruppenvereinigungen würden sich ergeben, wenn wir der Meinung von Denys und Martin (10) Rechnung trügen, daß die Variationen des Bacillus pneumoniae Friedländer ihn dem Bacillus typhi erstaunlich nahe bringen.

Bacillus typhi erhält andererseits, besonders durch Vermittlung der Paratyphusgruppe und des Bacillus paracoli, verwandtschaftliche Beziehungen zur Coli-Gruppe.

Es läge nahe, in unserem Bacillus nova species ein weiteres Bindeglied, insbesondere zwischen der Friedländer- und Coli-Gruppe zu betonen, jedoch teilen wir die Meinung von Abel und Hallwachs, daß es zunächst sicher besser ist, zuviel zu trennen, als zuviel zu vereinen.

Wir haben daher das Verhalten unseres Bazillus in allen gebräuchlichen Nährböden beobachtet und stellen nun die Unterschiede mit den nahe verwandten Gruppen, wie folgt, zusammen.

Wir glauben damit die vorläufige systematische Stellung des Bacterium mycophagum nov. spec. genügend gekennzeichnet zu haben. Seine nahe Beziehung zu den eigentlichen Kapselbakterien („der Friedländergruppe") glaubten wir, im Titel der Arbeit zum Ausdruck bringen zu sollen.

Beziehungen des Bacillus mycophagus n. sp. zur Gruppe des Bacillus pneumoniae Friedländer.

Aus der Tabelle ist zu sehen, daß Bacillus n. sp. der Gruppe der eigentlichen Kapselbazillen (dem Bacillus pneumoniae Friedländer) in seinen Eigenschaften am nächsten stünde, wenn ihn nicht das Postulat der Unbeweglichkeit für diese Gruppe grundlegend von ihr trennte.

Wollte man diese Schranke fallen lassen und das Bacterium mycophagum n. sp. der Friedländer-Gruppe einordnen, so würde es sich innerhalb dieser Gruppe, deren Einteilung (bzw. die Trennung der einzelnen Formen) die größten Schwierigkeiten bereitet, abgesehen von der Beweglichkeit, gut kennzeichnen durch die rahm- bis goldgelbe Färbung, besonders auf glyzerinhaltigen Nährböden und das lebhaft gelbe Wachstum auf Kartoffel.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Säurebildung ist erheblicher, als bei den meisten Friedländer-Bazillen. Während ferner von den Friedländer-Bazillen meist berichtet wird, daß die Fähigkeit der Kapselbazillen in künstlichen Nährböden verloren geht, besitzt Bacillus mycophagus n. sp. stets die Kapsel in festen Nährböden nach mehrtägiger Kultur. Er gleicht in dieser Hinsicht dem Diplobacillus capsulatus Mießner und Lange, von dem der letztere angibt, daß bei Anwendung der Boni-Czaplewskischen Färbung die Kapsel stets zu sichten sei. Vielleicht ist auch bei manchen Friedländer-Bazillen die Kapsel aus künstlichen Nährböden mangels geeigneter Färbetechnik übersehen worden.

Beziehungen zur Aërogenes- und Coli-Bazillengruppe. Beweglichkeit, starke Schleimbildung, das nie coliähnliche Wachstum in trockneren, flachen Kolonien, die breite Kapsel scheidet den Bacillus mycophagus n. sp. von der Aërogenes-Gruppe, mit der es nur die Eigenschaft der stärkeren Gas- und Säurebildung teilt.

Noch mehr ist Bacillus mycophagus n. sp. von der Coli-Gruppe verschieden durch deren Indolbildung, das sehr trockene, weinblattähnliche Flächenwachstum der Kolonien. Auch seine Beweglichkeit

Unterscheidung des Bacillus n. sp. von verwandten Bakterien.

	Gruppe des Bacillus pneumoniae Friedländer	Gruppe des Bacillus aërogenes Escherich	Bacillus n. sp.	Gruppe des Bact. coli (inkl. immobilis)	Bacillus typhi
Beweglichkeit	i	i (nach Jensen m)	m lebhaft	m träge bis i	m lebhaft
Geißeln	keine	keine (nach Jensen einige)	?	wenige — keine	zahlreiche
Indolbildung	—	—	—	meist +	—
Kapsel	breit, besonders aus Organen, in Kulturen oft bald verloren gehend	oft mit schmaler Kapsel	breit, in festen Nährböden auch bei fortlaufender Kultur	—	—
Schleimbildung	stark, meist fadenziehend	mäßig	stark rahm- bis goldgelb, nicht fadenziehend	—	—
Gasbildung in Traubenzuckeragar	wechselnd, bei Rhinosklerom keine	stark	stark	stark	—
Säurebildung in Milchzuckerbouillon	wechselnd, meist gering	sehr stark	kräftig	stark	schwach
Wachstum in Milch	nicht koagulierend	koaguliert	koaguliert sehr langsam	koaguliert	nicht koaguliert
Wachstum auf Kartoffel	hellgelblich bis graugrünlich, stark glänzend, gasbildend	wie Coli	schwefelgelb, feucht glänzender üppiger Belag	gelb bis graubraun, meist glänzend saftig	zarte feuchte Decke, schleimig, oft fadenziehend
Aërobes a und anaërobes aa Gedeihen	a (aa)	a (aa)	a (aa)	a aa	a aa

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bringt den Bacillus mycophagus n. sp. der Coli-Gruppe nicht näher.

IV. Mykophagie. Zusammenfassende Diagnose.

Das vorstehend beschriebene Bakterium tritt bei ihm nicht völlig zusagenden Nährböden in ein parasitäres Verhalten zu Fadenpilzen, wenn es mit diesen in Mischkulturen kultiviert wird, besonders zu einigen Mucorineen. Hierzu sind auch andere Bakterien befähigt. Wir möchten dies als vorläufige Angaben angesehen wissen, da wir eine eingehende Bearbeitung dieser Erscheinung, die wir „Mykophagie" der Bakterien nennen, in Vorbereitung haben.

Da unsere Feststellungen bei den Untersuchungen über das vorstehend beschriebene Bakterium die erste exakte Beobachtung über die zunächst noch vermutete Mykophagie darbot und diese Eigenschaft zu seiner Auffindung führte, möchten wir als Namen Bacillus mycophagus vorschlagen und geben folgende kurze Zusammenfassung:

Bacillus mycophagus nov. spec. ist ein plumper, oft in Diploform (Diplobacillus) verbunden bleibender, beweglicher, in der Jugend nackter, dann aber mit einer Kapsel versehener Mikroorganismus. Er wurde aus Malzkeimstaubpulver isoliert. Zu seiner Kultur eignet sich vor allem Glyzerinnähragar, auf dem er gelbschleimige, konfluierende Oberflächenkolonien und spindelförmige bis dreieckige Tiefenkolonien bildet. Er zeigt in seinem kulturellen und pathogenen Verhalten große Aehnlichkeit mit dem Bacillus pneumoniae Friedländer und anderen Verwandten dieser Mikrobengruppe. Bezeichnend ist das lebhaft gelbe Wachstum auf Kartoffel. In Traubenzuckeragar erfolgt reichlich Gasbildung, in Milchzuckerfleischbrühe kräftige Säurebildung. Das Bakterium ist aërob und pathogen für Kanin und Meerschweinchen im langsamen Krankheitsverlauf bei subkutaner Einverleibung oder Einverleibung per os, weniger für weiße Mäuse. Gegen Licht ist der Organismus sehr resistent.

Literaturverzeichnis.

1) Hartmann, J., u. Hopffe, A., Zur Giftigkeit der Schimmelpilze und anderer Hyphomyceten. (Dtsch. tierärztl. W. 1923. S. 88.) — 2) Mießner u. Lange, Ein pathogenes Bakterium in Fischmehl. (Ebenda. 1913. S. 745.) — 3) Collin, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 52. 1921. S. 125 und Inaug.-Diss. Hannover 1919. — 4) Benecke, Bau u. Leben der Bakterien. Leipzig u. Berlin 1912. S. 193. — 5) Wüstenberg, Besitzt der lebende Milzbrandbazillus eine Kapsel? Inaug.-Diss. Berlin 1916. — 6) Vgl. Gotschlich, A., Allgem. Morphologie u. Biologie d. Bakterien. (Kolle u. Wassermann, Hndb. d. pathog. Mikroorganism. Bd. I. 1912. S. 82.) — 7) Abel u. Hallwachs, Die Kapselbazillen. (Ebenda. Bd. 6. 1913. S. 515.) — 8) Jensen, Die Kälberruhr. (Ebenda. Bd. 6. S. 135.) — 9) Wilde, Ueber den Bacillus pneumoniae Friedländer u. verw. Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 20. 1896. S. 681.) — 10) Referat in Baumgartens Jahresbericht. Bd. 9. S. 549.

Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Zur Aetiologie der Ruhr, mit besonderer Berücksichtigung der Ruhrepidemie von 1920 in Petersburg[1]).

[Aus dem Medizinischen Institut und der Militärmedizinischen Akademie in Petersburg.]

Von Prof. **S. J. Zlatogoroff, A. A. Gorodkowa** und **W. W. Karetnikowa.**

Die Petersburger Ruhrepidemie 1920 hat im Juni begonnen und zeitigte im Laufe von 6 Monaten 4431 Erkrankungen mit 846 (19 Proz.) Todesfällen. Sie trat somit in einer nicht minder schweren Form auf als die vorhergehenden Ruhrseuchen. Es wäre falsch, anzunehmen, daß die Epidemie plötzlich ausgebrochen sei und noch 1920 ihr Ende gefunden hätte. Im Laufe der Frühlingsmonate 1920 waren vielmehr schon vereinzelte Ruhrfälle vorgekommen und im Winter 1920—21 setzten sich Ruhrerkrankungen fort. Die Morbiditätskurve, deren Maximum auf den Sommer und Herbst fiel, sank im Spätherbst steil herab und setzte sich durch den Winter 1921 hindurch fort.

Bei den bakteriologischen Stuhluntersuchungen von Ruhrfällen im Laufe einer ganzen Reihe von Jahren konnten wir bereits früher feststellen, daß in Petersburg alle 4 Ruhrerreger vorkommen, und zwar am häufigsten B. Shiga-Kruse und Flexner, weniger häufig Hiss-Russel und nur ganz selten B. Strong. Dabei zeigte sich, daß im Beginn der Epidemie der B. Shiga-Kruse vorherrschte, dessen ausgesprochene toxigene Eigenschaften durch spezielle Untersuchungen von E. Fischer in unserem Laboratorium sichergestellt wurden. Im Gegensatz zu den positiven bakteriologischen Ruhrbefunden, sei hervorgehoben, daß in einem nicht unbeträchtlichen Prozentsatze von typischen Ruhrfällen es uns nicht gelang, den bakteriologischen Nachweis von Dysenteriebazillen zu führen. Es wurden vielmehr auf den ausgestrichenen Stuhlplatten Mikroorganismen gezüchtet, die teils der Ruhrgruppe nahe stehen, wie B. Kulescha-Titoff, B. para-Shiga, B. para-Flexner, teils Stämme, die der Coli-Typhusgruppe (B. coli, B. paratyphi A und B) angehörten, und schließlich Arten, wie B. proteus, B. pyocyaneus, Streptococcus, B. mucosus und Protozoen, die ganz fern von der Dysenteriegruppe stehen.

In nachfolgender Tabelle sind die Ergebnisse der bakteriologischen Stuhluntersuchungen zusammengestellt.

Die bakteriologische Untersuchung erstreckte sich auf typische blutige Ruhrstühle, auf schleimige, für Ruhr wenig oder nicht charakteristische Stühle, die aber von klinisch verdächtigen Fällen stammten, und schließlich auf den Darminhalt von Ruhrleichen.

Im ganzen wurden 708 Fälle untersucht, von denen 355 Stühle und 24 Darmschlingen mit klinischer oder pathologisch-anatomischer Diagnose Ruhr eingeliefert wurden. Bei 297 Fällen war die Diagnose

1) Ein Teil dieser Beobachtungen wurde in der Petersburger Mikrobiolog. Gesellschaft und auf der 5. Tagung der russischen Bakteriologen und Epidemiologen in Moskau (25.—31. Mai 1921) mitgeteilt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ergebnis der bakteriologischen Untersuchungen:

Was für Material untersucht wurde und Zahl der Untersuchungen	B. Shiga	B. Hiss-R.	B. Flexner	B. proteus	Protozoa	B. coli	B. typhi	B. parat. A	B. parat. B	B. pyocyaneus	Streptococcus	B. Friedländeri	Proz.
Blutige dysenterische Stühle 241	24 (6)	7	17 + (4)	41	34	1	—	—	1	1	2	—	24 %
Schleimige dysenterische Stühle 114	5 (3)	7	3 + (5)	10	10	—	—	—	—	2	—	—	20 „
Nicht charakt. Stühle von klinisch verdächtigen Ruhrfällen 297	5 + (7)	9	7 + (2)	43	18	2	1	2	—	—	—	2	10 „
Nicht charakt. Stühle von Fällen mit unbestimmter Diagnose 28	1	—	2	2	2	—	1	—	—	—	—	—	10,5 „
Dysenterische Därme 24	3	—	1 + (1)	3	1	—	—	—	—	—	—	—	20,8 „
Wattebäusche von Ruhrverdächtigen 4	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Im Ganzen 708	38 + (16) / 54 (28%)	23	30 + (12) / 42 (28,5%)	99	65	3	2	2	1	3	2	2	17 %

in suspensu gelassen worden. Außerdem kamen zur Untersuchung 4 Wattebäusche, die in das Rectum von ruhrverdächtigen Kranken eingeführt waren und zum Ausstrich auf Platten verwendet wurden.

In 119 Fällen gehörten die isolierten Stämme der Ruhrgruppe an (58mal Shiga und mit ihm verwandte Arten, 23mal Hiss-Russel, und 42mal Flexner und mit der letzten Gruppe nahe verwandte Arten). In 179 Fällen beherrschten andere Mikroorganismen das Plattenbild (99mal B. Proteus, 65mal Protozoen, 3mal B. coli, 2mal B. typhi, 2mal B. paratyphi A, 1mal B. paratyphi B, 3mal B. pyocyaneus, 2mal Streptococcus, 2mal B. Friedländeri). Ausstriche von den eingelieferten Wattebäuschen ergaben ein negatives Resultat.

Bevor wir zur Besprechung dieser Zahlen und zur Bewertung der Ergebnisse übergehen, sei die Frage berührt, inwieweit die klinische Ruhrdiagnose bei unseren Fällen als sichergestellt zu betrachten sei. Zur Untersuchung gelangten Stühle, die sowohl von typischen Ruhrkranken, als auch von Ruhrverdächtigen stammten: die ersteren wurden sowohl im blutigen als auch im schleimigen Stadium (d. h. während der 1.—2. Woche und zwischen der 2. und 4. Woche der Erkrankung) untersucht.

Die klinische Diagnose Ruhr wurde von den entsprechenden Infektionsabteilungen nur dann gestellt, wenn neben dem typischen Ruhrstuhle auch die übrigen klinischen Kardinalsymptome der Dysenterie nicht vermißt wurden. Wir rechnen deswegen zu den echten Dysenteriefällen ausschließlich die 1. Krankengruppe (1., 2. und 5. Zeile der Tabelle). Diejenigen Fälle, bei denen das klinische Bild nicht einheitlich war, bei denen die Diagnose Ruhrverdacht gestellt wurde, oder bei denen sogar auch der Verdacht nicht recht begründet erschien (3., 4. und 6. Zeile) wurden nicht in Betracht gezogen, obwohl auch darunter, wie aus der Tabelle zu ersehen ist, zweifellose Ruhrfälle vorhanden waren.

Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Somit hatten unter 708 untersuchten Fällen 379 positiven bakteriologischen Befund. Bei der bakteriologischen Untersuchung hielten wir uns daran, die Stühle möglichst frisch zu verarbeiten. Falls dieses nicht möglich war, fand die Verarbeitung nie später als einige Stunden post defaecationem statt. Der Stuhl wurde in üblicher Weise auf Agar, Conradi- und Endo-Platte ausgestrichen. Die verdächtigen Kolonien wurden auf Kohlehydratnährböden überimpft und mit Hilfe der Probeagglutination untersucht. Die weitere Bestimmung der Dysenteriestämme erfolgte wesentlich auf Grund ihrer biochemischen Leistungen, wobei das Agglutinationsresultat nicht immer mit den biochemischen Eigenschaften übereinstimmte, oder bei vorhandener Gruppenimmunreaktion öfters zu diagnostischen Schwierigkeiten führte. Eine positive bakteriologische Diagnose wurde demgemäß in allen Fällen gestellt, bei denen sich Dysenteriebakterien, wenn auch nur vereinzelt, nachweisen ließen. Bei fehlenden Dysenteriebazillen wurde eine ätiologische Beziehung zur Erkrankung nur in denjenigen Fällen in Erwägung gezogen, bei denen die Kulturplatte von irgendeinem der bereits genannten Mikroorganismen beherrscht wurde, oder bei denen eine der Protozoenarten in überwiegender, auch wieder beherrschender Weise in den Fäzes angetroffen wurde. Die Untersuchung auf Protozoen lag in den bewährten Händen von Prof. W. Yakimoff.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, fällt die größte Zahl der Dysenteriebefunde auf die 1. Gruppe (blutige Stühle) — 24 Proz., in der 2. Gruppe (schleimige Stühle) ist die Zahl der positiven Befunde 20 Proz. und fast ebenso groß (20,8 Proz.) bei den Untersuchungen der Darmschlingen. Durchschnittlich war also der positive Befund bei einwandfreien Ruhrstühlen 21,6 Proz. Diese Zahl umfaßt 2 Bakteriengruppen, nämlich die Gruppe der echten Dysenteriebazillen Shiga, Flexner und Hiss-Russel und 2 Bakterien, die mit den letzteren nahe verwandt sind und die wir im allgemeinen zu den „para"-Bakterien rechnen. Besonders häufig wurden Bakterien nachgewiesen, die den Shiga- und Flexner-Bazillen nahestehen. Solche Befunde sind auf der Tabelle in Klammern angeführt und bilden für Shiga 28 Proz. und für den Typus Flexner 28,5 Proz. Wodurch ist dieser verhältnismäßig kleine, nur 21,8 Proz. betragende Satz von positiven Befunden zu erklären? Sind die Mißerfolge allein durch eine unzureichende Methodik zu erklären? Zwar ist seit längerem bereits bekannt, daß der bakteriologische Ruhrnachweis besonders häufig mißlingt bei Verarbeitung von Material, das nur wenige Stunden alt ist, bedingt durch das rasche Absterben der Ruhrbazillen. Demgemäß sind auch die besseren Resultate zu bewerten, die bei Verarbeitung von ganz frischem Stuhle erzielt werden. Aber selbst bei Berücksichtigung aller Vorsichtsmaßregeln und bei einwandfreiester Technik mißlingt in einem großen Prozentsatze von sicheren Ruhrfällen der bakteriologische Dysenterienachweis. Es zeigen vielmehr die Platten oft Reinkulturen von ganz anderen Bakterien (Kulescha, Bruchansky, Lawrionowitz, Neukirch, Zlatogoroff). Es spricht unserer Ansicht nach der fehlende Nachweis von Dysenteriebazillen bei einwandfreien Ruhrkranken keineswegs immer für eine Unvollkommenheit der Technik; das negative Resultat weist eher darauf hin, daß auch Bakterien, die keineswegs zu den Dysenteriebakterien gehören, pathologisch-anatomisch und klinisch das Bild einer Ruhr verursachen können. Unsere Untersuchungen weisen (siehe Tabelle) einerseits darauf hin, daß anscheinend typische Dysenteriebazillen im

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Krankenorganismus Veränderungen durchmachen, die sie zu den Paraformen (Zahlen in Klammern) stempeln, und daß andererseits bei der Abwesenheit von Dysenteriebazillen kein hinreichender Grund besteht, Bakterien und Protozoen, wie B. proteus vulgaris (54mal), Protozoen (45mal), B. coli (1mal), B. paratyphi B (1mal), B. pyocyaneus (3mal), Streptococcus (2mal), die das Platten- oder Stuhlbild beherrschen, von vornherein eine ursächliche Bedeutung abzusprechen. Bei den klinisch einwandfreien Fällen (siehe Tabelle) sehen wir, daß sich besonders oft B. proteus und Protozoen nachweisen ließen. Ebenso bei der Gruppe der Ruhrverdächtigen, bei denen außer den echten Dysenterie- und Parabazillen die oben erwähnten Bakterien und außerdem B. paratyphi A und B. Friedländeri nachgewiesen wurden.

Es fragt sich nun, was für Gründe dafür sprechen, den oben erwähnten Bakterien eine ätiologische Rolle bei der Dysenterie von 1920 zuzuschreiben? Handelt es sich nicht hierbei um rein zufällige Befunde? Um dieser Frage näherzutreten, sei auf einige Untersuchungen hingewiesen, die von uns und anderen Autoren gemacht wurden: Einer von uns (Zlatogoroff) hat in einer Reihe von klinisch einwandfreien Ruhrfällen, bei denen aber der bakteriologische Dysenterienachweis versagte und die ausgestrichenen Platten von B. proteus und B. paratyphi B beherrscht wurden, durch Agglutination und Komplementbindung das Vorhandensein von spezifischen Antikörpern in entsprechenden Konzentrationen bei den Kranken nachweisen können.

Wenn auch der Nachweis von entsprechenden Antikörpern keineswegs die ätiologische Rolle des Bakteriums sicherstellt, so sprechen diesbezügliche experimentelle Befunde in Tierversuch und eine gewisse Regelmäßigkeit, mit der die Antikörperproduktion beim Auftreten solcher Keime nachgewiesen wird, doch mit einer großen Wahrscheinlichkeit für eine pathognomonische Bedeutung der Bakterien.

Die Versuche mit Bacterium Kulescha-Titoff, B. proteus (Metschnikoff, Berthelot, Cyklinsky), B. coli (Gorowitz, Finkelstein, Lesage), B. paratyphi B (Uhlenhuth, Hübner), B. perfringens (Metschnikoff), pathogenen Amöben (Kartulis, Schaudinn), Kokken (Petrone), B. pyocyaneus (Lartigan) haben zur Genüge bewiesen, daß unter Umständen die obenerwähnten Mikroorganismen eine experimentelle Erkrankung der Tiere, die der humanen Dysenterie ähnlich ist, hervorrufen. Was die Häufigkeit des Befundes anderer Bakterien bei der klinischen Dysenterie anbetrifft, so gibt es auf diesem Gebiete eine hinreichend große Zahl von Hinweisen.

So hat bereits eine Reihe von Autoren (Veillon, Marfan und Lion, Grigorieff, Laveran und Janowsky) B. coli und coliartige Bakterien sowohl allein als in Kombination mit B. proteus (Maggiora) und B. pyocyaneus (Calmette) bei Dysenterie nachgewiesen. Auch in der neuesten Zeit wird der Gruppe der Darmbakterien (im weiten Sinne) eine gewisse Bedeutung in der Aetiologie der Dysenterie zugesprochen. In 1. Linie den den Dysenteriebazillen nahestehenden Arten, wie zum Beispiel den Bakterien Kulescha-Titoff, Deycke und Reschad. Es wäre vielleicht richtiger, sie als Varietäten der Dysenteriebazillen zu bezeichnen, um so mehr als die ganze Dysenteriegruppe in biochemischer Hinsicht besonders labil ist. Auch bei unseren Untersuchungen war eine beträchtliche Zahl von Mikroorganismen isoliert worden, die in keine Dysenteriegruppe eingereiht werden konnten, sondern zur Gruppe der Paradysenterie gezählt werden mußten,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

speziell in bezug auf ihr Verhalten zu den Zuckerarten und zur Agglutination. Was die ätiologische Rolle der B. coli anbetrifft, so scheinen wieder alte Ansichten zur Geltung zu kommen, die den Beobachtungen von Abe entsprechen, nach denen eine große Epidemie in Japan fast ausschließlich auf Bakterien der Coli-Gruppe zurückgeführt werden mußte. Auch haben Wright, Genswold und Bowman, Dörr, Nägele, Sissojeff und Schapscheff auf Coli-Befunde und Fürth auf Alcaligenes-Befunde bei der Dysenterie aufmerksam gemacht. Bezüglich des B. paratyphi B gibt es eine Reihe von Beobachtungen, die Ruhrerkrankungen mit dem obengenannten Erreger in ätiologischen Zusammenhang bringen. Von den neuesten Autoren sei auf Neukirch, Weil, Uhlenhuth, Hübener und Zlatogoroff verwiesen, die dysenterische Darmveränderungen unter der Einwirkung vom B. paratyphi B [oder B. lactis aërogenes (Czaplewski)] beschrieben haben. Besonders belehrend sind die Fälle Neukirchs, der Dysenterieerkrankungen in Klein-Asien beschrieben hat, bei welchen ein Erreger aus der Paratyphus B-Gruppe nachgewiesen wurde. Was diejenigen Arten anbetrifft, die der Darmtyphusgruppe nicht nahestehen, so ist in der Literatur eine Reihe von Beobachtungen vorhanden, die eine ätiologische Rolle bei Dysenterie ihnen zusprechen. Bärmann und Eckersdorf (Epidemie auf Sumatra) erwähnen die ätiologische Rolle des Streptococcus bei Dysenterie. Ebenso fanden Kruse und Pasquale, Beck, Weichselbaum, Bärmann und Eckersdorf bei typischen Dysenteriefällen, bei denen keine Dysenteriebazillen nachgewiesen werden konnten, Streptokokken.

Nach Lartigan kann auch B. pyocyaneus als Dysenterieerreger in Frage kommen. Blum, Escherich und Baginsky schreiben dem B. pyocyaneus eine ätiologische Bedeutung bei der hämorrhagischen Enteritis der Kinder und Erwachsenen zu. Auch Friedländers Kapselbazillus kann nach Fricke und Abel Durchfälle verursachen, wobei er in den Fäzes in Reinkultur nachgewiesen wurde. Am häufigsten aber wird in der Literatur die ätiologische Rolle des B. proteus bei Darmerkrankungen erwähnt. Die Arbeiten Metschnikoffs und seiner Schule (Bertrand, Cyklinsky) heben besonders scharf die ätiologische Rolle des B. protei bei den Kinderdurchfällen und bei der Dysenterie (Brudzinsky, Mayer) hervor. Vor kurzem berichtete Baerthlein über eine besondere Pathogenität dieses Erregers, der die Erkrankung von 2000 Personen verursachte mit dem Bilde einer akuten Enteritis. Nach Versuchen von Metschnikoff kann auch B. perfringens eine Ruhr verursachen, besonders aber beim Zusammenwirken mit B. proteus (Berthelot, Cyklinsky). Versuche aus dem Laboratorium von Bogomolez sprechen neuerdings (Bruchansky 1918) für die ausgesprochene Bedeutung von B. proteus, perfringens und coli bei der Kinderdysenterie.

Seine diesbezüglichen bakteriologischen Untersuchungen 1916—1917 zeitigten positive Dysenteriebefunde nur in 17 Proz., im übrigen wurden 23,6 Proz. B. coli, in 18 (1 Proz. B. proteus) und 3,6 Proz. B. perfringens nachgewiesen. In vielen Fällen waren die oben erwähnten Bakterien in Symbiose gefunden worden.

Was schließlich die ätiologische Rolle der Protozoen anbelangt, so sind diese schon längst zu den Dysenterieerregern gezählt worden. In der Aetiologie der Ruhr spielt nicht allein die typische Entamoeba histolytica eine Rolle, sondern mit großer Wahrscheinlichkeit auch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eine Reihe anderer Einzelligen, wie z. B. die Amoeba tetragena, Limax, Chilostomastyx, Balantidium c., Lamblia (Yakimoff), Plasmodium malariae und andere.

Die wenig einheitlichen Ansichten in der Fachpresse über die Aetiologie des klinisch als Dysenterie angesprochenen Krankheitsbildes veranlaßten noch 1909 die Londoner medizinische Gesellschaft, dem Vorschlage von Manson beizustimmen, der untenfolgendes Einteilungsschema der Dysenterieerkrankungen vorschlug:

Dysenteria	Bacterial	Bacillaris Bac. dysenteriae (Shiga etc.) Bac. pyocyaneus Micrococcus Durham
	Protozoal	Amoebica (Am. histolytica) Balantidium dysent. (Bal. coli) Kala-azar (Leishman) Malaria
	Verminosa	Schistosomum japonicum „ haematobium „ Manson Oesophagostomum Brumpti.

Die ausführlich zitierten Literaturangaben zeigen, daß wir in der von uns vertretenen Meinung, die sich wesentlich auf unsere eigenen Beobachtungen stützt, keineswegs auf Originalität prätendieren. Wir meinen nur, darauf hinweisen zu müssen, daß wir uns zum Satze bekennen, daß nicht jede klinisch ausgesprochene Dysenterie unbedingt durch einen von der 4-gliedrigen Dysenteriegruppe abstammenden Bazillus hervorgerufen sein muß, sondern daß auch andere Bakterien die Ruhr verursachen können. Demgemäß müssen wir auch in praktischer Hinsicht uns hüten, Dysenterie auszuschließen bei fehlenden „spezifischen“ und vorhandenen „aspezifischen“ bakteriologischen Befunden.

Auch die Prophylaxe sowie die Behandlung der Dysenterie müßten im Zusammenhang damit von ganz anderen Gesichtspunkten, als es bis jetzt der Fall war, geleitet werden.

Im Zusammenhang damit steht ferner die Frage, in welcher Weise die Ruhrformen zustande kommen, die nicht durch Dysenteriebazillen hervorgerufen werden? Der eine von uns (Zlatogoroff) ist zurzeit mit Versuchen in dieser Richtung beschäftigt, die zur Annahme führen, daß viele Dysenteriefälle nicht exogenen, sondern endogenen Ursprungs sind, und daß die Rolle der Darmflora beim Zustandekommen der Dysenterie nicht unterschätzt werden darf.

Literaturverzeichnis.

Lüdke, Die Bazillenruhr. 1911. — Kulescha, G. S., Dysenteriebakterien. (Die Lehre v. d. Mikroorganismen. Unt. Redakt. v. Zlatogoroff. Bd. 3. 1918. — Bruchansky, B. P., Zur Frage über die Aetiologie und Therapie der blutig-schleimigen Durchfälle bei Kindern in Saratow .... [Dissert.] Saratow 1918. — Zlatogoroff, S. J., Ueber Paratyphus. (Russky Vratsch. 1910.) — Metschnikoff, Étude sur la flore intest. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1914.) — Cyklinsky, Mikroflora des Menschenkörpers. (Die Lehre von den Mikroorganismen. Unt. Redakt. von Zlatogoroff. Bd. 3. 1918.) — Uhlenhuth u. Hübner, Infekt. Darmbakterien. (Handb. von Kolle u. Wassermann. Bd. 2. 1913.) — Lartigan, siehe Heller u. Lepère, Bac. pyocyaneus. (Ebenda. Bd. 5. 1913.) — Deycke u. Reschad, Dtsch. med. Wochenschr. 1901.) — Lissejeff u. Schapscheff, Bakteriologie der Dysenterieerkrankungen in Mogilew am Don 1916—1917. — Lewy u. Schiff, Eine 3. Form des Paratyphus. (Berlin. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 45.) — Bärmann u. Eckers-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dorf, Münch. med. Wochenschr. 1901. — Abel u. Hallwachs, Die Kapselbazillen. (Handb. v. Kolle u. Wassermann. Bd. 6. 1913.) — Trinkler, Prschewalsky u. Korschun, Chronische Entzündungen und bösartige Neubildungen. Monographie. (Wratschebnoie Djelo. Jg. 14 u. 15.) — Mayer, Bakteriologische Ergebnisse bei ruhrartigen Darmerkrankungen ohne Ruhrbazillen. (Ztschr. f. klin. Med. Bd. 88.) — Baerthlein, Ueber ausgedehnte Wurstvergiftungen, bedingt durch Bac. proteus vulg. (Münch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 6.) — Neukirch, Ueber paratyphus-ähnliche Bakterien im Blute bei ruhrartigen Erkrankungen in der Türkei. (Berl. klin. Wochenschrift. 1917. Nr. 15, oder Ztschr. f. Hyg. Bd. 85.) — Lawrinowitsch, A. B., Zur Frage über akute Darmtraktuserkrankungen bei Soldaten. (Russky Vratsch. 1916 Nr. 19.)

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Differenzierung der Pneumokokken.

[Aus der Untersuchungsabteilung (Leiter: Prof. Dr. Carl Prausnitz), des Hygienischen Instituts der Universität Breslau (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von **Ilchun Yu,** Seoul (Korea).

Die teilweise recht ausgesprochenen Differenzen zwischen den verschiedenen aus dem Körper gezüchteten Pneumokokkenstämmen haben schon lange eine Reihe von Forschern zu der Annahme geführt, daß es verschiedene Pneumokokkenrassen geben müsse.

So fand bereits 1890 Banti bei der Untersuchung von 47 Pneumokokkenkulturen aus lobären Pneumonien 4 solcher Rassen, die in ihrem kulturellen Verhalten und in der Tiervirulenz voneinander abwichen. Er wies nach, daß bei dem gleichen Falle auch in verschiedenen Stadien der Krankheit ein und dieselbe Varietät unverändert bestand; es handelte sich also nicht etwa um Abwandlungen der Pneumokokken unter dem Einfluß des Tierkörpers. Das Vorkommen kulturell verschiedener Pneumokokken beschrieben auch Levy und Steinmetz. Aus den kulturellen Differenzen wie aus dem serologisch verschiedenen Verhalten der Pneumokokken im bakteriziden Reagenzglasversuch schlossen Kruse und Pansini (1892), daß zwar eine große Variabilität unter den Pneumokokken bestände, daß es aber nicht möglich wäre, „wirklich distinkte Varietäten aufzustellen". Eyre und Washbourn konnten agglutinatorisch sowie im Tierversuch deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen von ihnen gezüchteten Pneumokokkenstämmen feststellen. Unterschiede im Verhalten der Sera von Pneumoniegenesenen gegen den homologen Stamm und andere Pneumokokkenkulturen beschrieben Bezançon und Griffon.

Römer teilte mit, daß gewisse Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen in immunisatorischer Hinsicht bestehen, und versuchte deswegen, durch Benutzung verschiedener Kulturen ein zu Heilzwecken geeignetes polyvalentes Serum herzustellen. Neufeld und Haendel fanden, daß hochwertige Kaninchen-, Esel- und Pferdesera, die durch Immunisierung mit einem Pneumokokkenstamm hergestellt waren, gegen die meisten hochvirulenten Stämme etwa ebensogut schützten, wie gegen den eigenen Stamm, daß es aber andere, von ihnen als „atypisch" bezeichnete, Stämme gibt, die, ohne sich sonst irgendwie zu unterscheiden, durch dasselbe Serum gar nicht beeinflußt werden. Auch das Römersche und ebenso das Landmannsche Serum waren gegenüber diesen atypischen Kulturen ebensowenig wirksam, wie die von Neufeld und Haendel aus einem einzigen Stamme hergestellten Sera; sie waren also gar nicht polyvalent; sie sind zwar mit verschiedenen Stämmen gewonnen, aber offenbar mit Stämmen desselben Typus. Ihre weiteren Untersuchungen haben gezeigt, daß es nicht nur eine, sondern mehrere Gruppen atypischer Pneumokokkenstämme gibt. Sie fanden noch 2 andere Stämme (Br. und Gössel), die jeder für sich eine eigene, offenbar seltene Gruppe bildeten, indem sie sich immunisatorisch sowohl untereinander, wie von allen anderen Stämmen unterschieden.

In den Jahren 1913 ff. berichteten Cole und seine Mitarbeiter Dochez, Avery, Gillespie und Chickering, daß es ihnen bei der Untersuchung von lobären

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Pneumonien gelungen wäre, 4 Gruppen von Pneumokokken serologisch zu unterscheiden. Den am häufigsten gefundenen Typus nannten sie I, einen weniger häufig gefundenen II, eine 3. Art, die sich durch Wachstum in großen, schleimigen Tropfen auf eiweißhaltigen Nährböden auszeichnet, Typus III oder Pneumococcus mucosus. Diese 3 Unterarten waren mit spezifischen Immunseren durch die Agglutination, Präzipitation und den Schutz im Tierversuch scharf voneinander zu differenzieren. Unter den übrig bleibenden Stämmen, die durch diese Sera nicht beeinflußt wurden, scheint ein serologisch einheitliches Verhalten nicht zu bestehen; sie vereinigten alle diese Stämme in Gruppe IV. — Später gelang es, auch die Gruppe II in eine Reihe von Untergruppen aufzuspalten, die sie mit II A, II B und II X bezeichneten; alle diese Stämme waren durch das Serum des Typus II agglutinierbar, wenn auch in verschiedener Stärke; die Untergruppen II A und II B stellten je eine serologisch einheitliche Unterart dar, die auf dem Wege des Castellanischen Absorptionsversuchs sicher voneinander zu trennen waren; die weder durch das Serum II A noch II B, sondern nur durch das Serum des Haupttypus II beeinflußbaren Stämme waren — ähnlich wie die Stämme der Gruppe IV — nicht serologisch einheitlich und wurden daher in der besonderen Gruppe II X vereinigt.

Es fand sich bei den lobären Pneumonien in überwiegender Zahl der Typus I, weniger häufig die Angehörigen der anderen 3 Typen (vgl. nachstehende Tabelle). Am höchsten war die Virulenz des Typ. III, dana folgte II, dann I, dann IV. Die erste Veröffentlichung von Cole umfaßte 74, eine spätere 700 Fälle von lobärer Pneumonie.

Vorkommen der Pneumokokkenstämme bei 700 Fällen		Mortalität der 700 Fälle	
Typ. I	35 Proz.		25 Proz.
„ II	30 „		32 „
„ III	10 „		45 „
„ IV	25 „		16 „

Im Gegensatz hierzu fand Lyall bei anderen Lungenaffektionen im Sputum vorwiegend Angehörige des Typus IV (vgl. nachstehende Tabelle).

50 Fälle (43 Tuberkulosen, 5 Bronchiektasen und 2 Asthmasputa).

Typus	I	10 Proz.
„	II	0 „
„	III	15 „
„	IV	75 „

Aus diesen Befunden schlossen die amerikanischen Forscher, daß die Erreger der lobären Pneumonie nicht identisch wären mit dem normalerweise im Munde vorkommenden Pneumokokkentyp; der vielfach angenommene Entstehungsweg durch das Virulentwerden von Mundpneumokokken unter dem Einflusse besonderer Schädigungen des Erkrankten (Erkältung, Trauma) war hiernach unwahrscheinlich geworden. Man mußte vielmehr daran denken, daß die pneumonieerregenden Pneumokokken besondere Abarten darstellten. Dies wurde dadurch noch wahrscheinlicher, daß man sowohl bei Pneumokokkenrekonvaleszenten wie bei einzelnen Gesunden, die mit Pneumonikern in enge Berührung gekommen waren, fast nur Pneumokokken des gleichen Typus fand, der bei dem betreffenden Pneumoniker festgestellt war; bei anderen Gesunden wurden dagegen die Pneumokokken der Typen I, II und III nicht gefunden.

Eine interessante Bestätigung dieser Ergebnisse stellen die Befunde von Stillmann dar, der im Fußbodenstaube von Krankenzimmern, in denen Pneumoniker gelegen hatten, von 183 Proben in 34 Proz. den Typ. I, in 31 Proz. den Typ. II finden konnte, während in 62 Staubproben aus Zimmern, die von Gesunden bewohnt waren, zwar 18mal Pneumokokken gefunden wurden, von denen aber nur einer dem Typ. I, keiner dem Typ. II angehörte.

Die Untersuchungen der amerikanischen Forscher bilden eine bedeutungsvolle Erweiterung der älteren Angaben und sind zum Teil bestätigt worden, insbesondere von Neufeld: in seinem Institut fand Schiemann (1912/13) bei 37 Fällen: den Typ. I in 29 Proz., II in 19 Proz., III in 10 Proz., IV in 42 Proz. Aehnliche Ergebnisse hatten Hintze und Peter, in Dänemark Thomsen und Christensen; ferner fand im südafrikanischen Minenbezirk Lister bei der geradezu epidemisch auftretenden Pneumonie der Kulis hauptsächlich die Stämme I und II, daneben aber auch einen weiteren Stamm der Gruppe IV, von dem angenommen wird, daß er sich an die bis dahin wenig befallene schwarze Rasse besonders angepaßt hätte. Zu einer weniger

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

scharfen Sonderung der einzelnen Pneumokokkenstämme kamen Mathers sowie Nicolle und Debains.

Auf Anregung von Herrn Geh.-Rat Pfeiffer habe ich am Material mehrerer Breslauer Kliniken entsprechende Untersuchungen ausgeführt. Die zur Diagnose erforderlichen Sera nebst den zugehörigen typischen Pneumokokkenkulturen I, II und III wurden in liebenswürdiger Weise von Herrn Geh.-Rat Neufeld zur Verfügung gestellt, wofür ich mir gestatte, ihm den allerherzlichsten Dank auszusprechen. Herr Geh.-Rat Neufeld hatte auch die Güte, aus einem hierfür bereit gestellten Fonds geldliche Unterstützungen für den Ankauf der erforderlichen Tiere zu überlassen.

Die Technik unserer Untersuchungen schloß sich genau an das im Institut für Infektionskrankheiten Robert Koch befolgte Verfahren an. Zwei verschiedene Methoden der Identifizierung haben sich dort besonders bewährt:

1) Sputumflocken oder Stückchen pneumonischer Lungen werden in physiol. Kochsalzlösung gründlich gewaschen und in sterilem Mörser mit etwas frischer Kochsalzlösung verrieben; die Emulsion wird auf Aszites-Agarplatten ausgestrichen, und die Reinkultur in 10-proz. Pferdeserumbouillon überimpft. Von der gleichmäßig getrübten 24-stünd. Serumbouillonkultur mischt man in Uhlenhuth-Röhrchen je 0,1 ccm mit 0,1 ccm geeigneter Verdünnungen der Immunsera; man verwendet zweckmäßig Serum I und III in Verdünnung 1:20, Serum II in Verdünnung 1:5. Die Agglutination tritt nach spätestens 24 Std. bei 37° auf und wird mit der Lupe oder im Agglutinoskop abgelesen. Die Resultate bleiben in der Regel bis zur 24. Std. gleich, doch tritt nach dieser Zeit gelegentlich auch in den anderen Seren eine gewisse Flockung ein.

2) Dies Verfahren erfordert immerhin einige Tage; will man aber den Pneumoniker mit Serum behandeln, so ist es offenbar von höchster Wichtigkeit, die Diagnose des Typus möglichst rasch zu stellen, damit man frühzeitig auch das richtige Serum spritzen kann. Außerdem ist das geschilderte Isolierungsverfahren schwierig, wenn die Pneumokokken im Untersuchungsmaterial nur spärlich vorhanden sind. In diesen Fällen kommt man durch den Tierversuch rascher zum Ziele: Das Untersuchungsmaterial wird einer Maus intraperitoneal eingespritzt, die meist innerhalb von 12—24 Std. stirbt. Das Peritonealexsudat wird mit einer Oese in etwas physiol. Kochsalzlösung zu einer leicht trüben Aufschwemmung verrieben; hiervon mischt man auf dem Objektträger je einen Tropfen mit einem Tropfen unverdünnten Immunserum I, II oder III sowie einem Tropfen wässeriger Kristallviolettlösung 1:30 und legt ein Deckglas darauf. Die Agglutination tritt fast augenblicklich auf und wird mikroskopisch festgestellt.

3) Ein weiteres Verfahren der Schnelldiagnose besteht darin, die gewaschene Sputumflocke in Traubenzuckerbouillon 5 Std. bei 37° zu bebrüten und diese Flüssigkeit zur Präzipitation mit spezifischem Serum zu verwenden. Ich habe nur die ersten beiden Verfahren verwendet.

Meine Untersuchungen wurden vom Dezember 1922 bis März 1923 ausgeführt. Verwendet wurden Sputa, die dem Institut zu diesem Zwecke vom Städtischen Allerheiligenhospital, vom Wenzel Hancke-Krankenhause und vom St. Georgs-Krankenhause zur Verfügung gestellt wurden; ferner Sektionsmaterial aus dem Allerheiligenhospital. Die Herren Prof.

Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Dr. Ercklentz, Privatdozent Dr. Severin und Privatdozent Dr. Mathias haben uns hierbei in dankenswerter Weise unterstützt.

Das Material umfaßt 13 Fälle von lobärer Pneumonie, ferner 38 Fälle sonstiger Pneumokokkeninfektionen und 13 Pneumokokken von Sputum oder Rachenabstrichen gesunder Personen. Es wurde hierbei besonderes Gewicht auf die Entscheidung der Frage gelegt, ob das Verhältnis zwischen den einzelnen Pneumokokkentypen bei nicht lobären Pneumonien und sonstigen Pneumokokkeninfektionen dem bei der lobären Pneumonie gefundenen Verhältnis entspricht. Hierauf wird später eingegangen werden.

a) Lobäre Pneumonien.

Das verfügbare Material war leider spärlich, doch gelang es, 13 typische Fälle zur Untersuchung zu erhalten (10 Sputa von Kranken auf der Höhe der Krankheit, 3 Sektionsfälle). Das Ergebnis zeigt nachstehende Tabelle:

	Pneumokokken aus		Zusammen	
	Sputum	Sektionsmaterial		Proz.
Typ. I	5	0	5[1])	35,7
„ II	2	1	3	21,4
„ III	2	2	4[1])	28,6
„ IV	2	0	2	14,3
Summe	11	3	14	100,0

Demnach scheint in diesem Winter in Breslau eine relative Häufung von Typ. III-Infektionen geherrscht zu haben. Ob dieses Verhältnis für den Ort oder nur für die Zeit charakteristisch war, müssen weitere Untersuchungen lehren, die im Breslauer Institut von anderer Seite fortgesetzt werden sollen.

Es sei ausdrücklich bemerkt, daß die Pneumokokken des Typus III bereits in der Kultur stets in dicken, schleimigen Tropfen wuchsen, ganz unähnlich dem Aussehen der gewöhnlichen Pneumokokken, so daß die Diagnose in diesen Fällen schon ohne Agglutination gelang. Im Tuschepräparat, das mit Fuchsinlösung 1:20 nachgefärbt wurde, sah man die Diplokokkenleiber von einer mächtigen Kapsel umgeben, deren Durchmesser 3—4mal so groß war, wie die Kokkenleiber. Die Kokken lagen entweder zu 2 oder in kurzen starren Ketten; sie unterscheiden sich also deutlich von dem Aussehen des Streptococcus mucosus, der bei gleichem Aussehen der Kultur mikroskopisch meist längere, zierlich gewundene Ketten aufweist. Auch serologisch sind sie von diesem scharf zu unterscheiden; denn der Streptococcus mucosus wurde auch in unseren Versuchen — in Bestätigung der Angaben der amerikanischen Forscher — sowohl nach Methode 1 wie 2 von den Pneumokokkenseren I, II und III nicht agglutiniert. Es entspricht auch der von den Amerikanern festgestellten besonders hohen Virulenz des Typus III, daß gerade bei den Sektionsfällen dieser Typus relativ häufig aufgefunden wurde.

b) Bronchopneumonien.

Es war von vornherein zu erwarten, daß die Erreger der Bronchopneumonie — so weit es sich überhaupt um Pneumokokken handelt —

1) In einem Falle lag eine Mischinfektion von Typus I und III vor.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ein ähnliches Verhalten aufweisen würden, wie die bei der lobären Pneumonie gefundenen. Dies war jedoch nicht der Fall, wie sich aus nachstehender Tabelle ergibt:

20 Fälle von Bronchopneumonie.

	Sputum von Lebenden	Lunge von Leichen
Typ. I	1	1
„ II	0	14
„ III	0	0
„ IV	2	2

Der vorherrschende Erreger der Bronchopneumonie ist demnach der Typus II, während I und IV selten, III gar nicht gefunden wurde.

Es ist denkbar, daß hier Zufälligkeiten, bedingt durch die relativ kleinen Zahlen, vorliegen. Diese, allerdings wenig wahrscheinliche Annahme wird weiterer Nachprüfung vorbehalten.

c) Hypostatische Pneumonien.

Während die bisher berichteten Untersuchungen am Material primärer Pneumonien ausgeführt wurden, erschien es erwünscht, zur Vervollständigung auch solche Fälle heranzuziehen, bei denen im Anschluß an irgendeine andere Erkrankung sub finem eine hypostatische Pneumonie aufgetreten war. Hier mußte man mit der Möglichkeit rechnen, daß die weniger virulenten Mundpneumokokken in dem geschwächten Körper noch die Möglichkeit zur Ansiedlung in der Lunge fanden. In der Tat liegt hier jedoch ein ganz ähnliches Verhältnis vor, wie bei den Bronchopneumonien: unter 16 Fällen von hypostatischen Pneumonien wurde 13mal Typ. II, 3mal Typ. IV, niemals Typ. I oder III gefunden.

d) Sonstiges Material.

2 Fälle von Pneumokokkenmeningitis bei 2 Erwachsenen im Alter von 20, bzw. 25 Jahren wurden durch Typ. II hervorgerufen. Dies ist insofern auffällig, daß man hätte erwarten sollen, daß eher die höher virulenten Typen III und I die Fähigkeit zu solcher Metastasenbildung haben würden.

e) Material von Gesunden.

Zur Vervollständigung des bisher gewonnenen Bildes von der Verteilung der Pneumokokkentypen wurden noch von 12 Gesunden die im Mund oder Rachen vorkommenden Pneumokokken identifiziert. Das Ergebnis war überraschend, denn es fanden sich hierbei nicht nur die nach den obigen Darlegungen zu erwartenden Typen II und IV, sondern auch Angehörige der Gruppe III (vgl. Tabelle).

13 Pneumokokkenstämme aus Gesunden.

Typ. I	1
„ II	2
„ III	1
„ IV	9

f) Kulturelle Untersuchungen.

Gleichzeitig mit der serologischen Prüfung wurde der Versuch gemacht, die Stämme bald nach der Isolierung auch nach ihrem sonstigen Verhalten zu unterscheiden. Es wurde bereits oben erwähnt, daß der Typus III durch seine Schleimhülle makroskopisch und mikroskopisch

Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

ohne weiteres erkennbar ist. Zwischen den übrigen Stämmen wurden keine einheitlichen morphologischen Differenzen festgestellt. Das Galleverfahren wurde hier nicht herangezogen, da es keine Unterscheidungsmöglichkeiten versprach. Dagegen zeigte sich bei der kulturellen Isolierung auf Kochblutagar das auffallende Verhalten, daß einige Stämme der Gruppe II und IV den Blutfarbstoff nicht veränderten, während in der Regel der Pneumococcus auf diesem Nährboden grüngelb bis kanariengelb wächst. Ferner gelang es, auch im Verhalten gegenüber einigen Kohlehydraten Unterschiede aufzudecken. Die Prüfung geschah auf der Lackmus-Kohlehydrat-Aszitesagarplatte nach v. Lingelsheim; um jede Zersetzung der Kohlehydrate durch Invertierung zu verhüten, wurden die Lösungen nach der in diesem Institut eingeführten Methode nur durch Berkefeldkerzenfiltration sterilisiert und dem verflüssigten, auf 45° abgekühlten Agar gleichzeitig mit dem Aszites zugesetzt. Hierbei zeigte es sich, daß sämtliche Stämme der Gruppe I und III Dextrose, Lävulose, Galaktose, Maltose, Mannit, Saccharose und Laktose nicht angreifen. Die Stämme der Gruppe II und IV, bei denen — entsprechend den Untersuchungen der amerikanischen Autoren und dem von uns festgestellten Verhalten auf Kochblutagar — keine Einheitlichkeit bestand, zeigten auch in der Zuckervergärung wechselndes Verhalten: die Mehrzahl verhielt sich negativ; ein Teil der auf Kochblutagar farblos wachsenden rief jedoch innerhalb von 24 Std. eine deutliche, kräftige Vergärung aller oben angeführten Kohlehydrate hervor. Diese Prüfungen sind nur an der Mehrzahl der isolierten Stämme ausgeführt worden; ein kleiner Teil der Kulturen war vorher abgestorben und konnte daher nicht untersucht werden.

		Zahl der Stämme				Zusammen
		I	II	III	IV	
α) Kochblutagar gelbgrün, Kohlehydrate	nicht vergoren	6	22	4	9	41
β) „ farblos, „	vergoren	0	5	0	2	7
γ) „ „ „	nicht vergoren	0	2	0	1	3
		6	29	4	12	51

Auf Grund dieses Verhaltens versuchte ich, eine entsprechende serologische Untergruppierung auszuführen und wählte hierzu den Pneumokokkenstamm Nr. 11 (Gruppe II, Kochblutagar farblos, Zucker vergoren). Ein Kaninchen erhielt intravenös am 13. Febr. 1923 1 ccm durch Erhitzen abgetötete Serumbouillonkultur, am 18. Febr. 2 ccm derselben, am 21. Febr. je 1 ccm abgetöteter Kultur aus einer frischen Mäusepassage, am 24. und 25. 0,5 ccm, am 26. 1 ccm lebender Kultur derselben Passage. Das am 8. März 1923 entnommene Serum agglutinierte den homologen Stamm bis 1 : 1600. Diese hohen Agglutinationswerte sind bekanntlich bei Pneumokokken nicht gerade häufig zu erzielen. Sie sind aber z. B. von Huber und von Kindborg beobachtet worden. Dabei hat Kindborg jedoch nur Agglutination des homologen Stammes gefunden.

Mein Stamm 11-Serum zeigte jedoch noch in Verdünnung 1 : 200 eine ausgesprochene Agglutination für eine Reihe anderer Stämme, nämlich für die 4 anderen Stämme der Gruppe II β, die auf Kochblutagar und in Zuckernährböden sich ebenso verhielten wie Stamm 11, und auf 2 von den 20 Stämmen der Gruppe II α, die auf Kochblutagar gelbgrün

Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

wuchsen und Zucker nicht vergoren. Nicht agglutiniert wurden von meinem Serum alle übrigen Stämme der Gruppe I, III und IV.

Diese Befunde stellen eine Bestätigung der von den amerikanischen Forschern erhobenen Befunde über die Aufspaltung der Gruppe II dar. In Erweiterung ihrer Angaben hat sich hier jedoch ergeben, daß neben und zum Teil nicht ganz parallel mit dem serologischen Verhalten eine ausgesprochene kulturelle Verschiedenheit der Gruppenangehörigen vorliegt. Wir sehen also, daß die Stämme der Gruppe I und III ein kulturell und serologisch durchaus einheitliches Verhalten aufweisen, Gruppe II sich in mindestens 3 Untergruppen aufteilen läßt.

Zum Schluß möchte ich Herrn Geheimrat Pfeiffer für die liebenswürdige Aufnahme in seinem Institute und die Anregung zu dieser Arbeit, sowie Herrn Prof. Prausnitz für die zahlreichen Ratschläge und das meiner Arbeit entgegengebrachte freundliche Interesse den verbindlichsten Dank aussprechen.

Literatur.

Banti, Arch. di Anat. norm. et pat. 1890; Lo Sperimentale. 1890; Ref. Baumg. Jahresber. für 1890. — Bezançon et Griffon, Sem. Méd. 1897. p. 217; Ann. Inst. Pasteur. 1900. p. 477. — Chickering, Journ. exp. Med. Vol. 20. 1914. p. 599. — Cole, Journ. Amer. Med. Assoc. Vol. 61. 1913. p. 613. — Dochez and Avery, Journ. exp. Med. Vol. 21. 1915. p. 114. — Ders. and Gillespie, Journ. Amer. Med. Assoc. Vol. 61. 1913. p. 727. — Eyre and Washbourn, Brit. med. Journ. Vol. 2. 1899. p. 124. — Hintze u. Peter, München. med. Wochenschr. 1921. S. 1011. — Huber, Berlin. klin. Wochenschr. 1903. S. 358. — Kindborg, Ztschr. f. Hyg. Bd. 51. 1905. S. 497. — Kruse u. Pansini, ebenda. Bd. 11. 1892. S. 279. — Levy und Steinmetz, Arch. f. exp. Path. Bd. 87. 1896. S. 89. — Lyall, Journ. exp. Med. Vol. 21. 1915. p. 146. — Mathers, Journ. inf. Dis. Vol. 17. 1915. p. 314. — Neufeld u. Haendel, Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 4. 1912. S. 513. — Ders., Dtsch. med. Wochenschr. 1922. S. 51 (dort weitere neuere Literatur). — Nicolle u. Debains, Ann. Inst. Pasteur. 1920. p. 177. — Römer, Dtsch. med. Wochenschr. 1909. S. 1953. — Stillmann, Journ. exp. Med. Vol. 24. p. 651; Vol. 26. p. 513; Vol. 29. p. 521. — Thomsen u. Christensen, Veröff. Stat. Ser. Inst. Kopenhagen. Bd. 11. 1921. S. 501.

Nachdruck verboten.

Ueber die Brauchbarkeit der Meinickeschen Reaktion (D.M.) zum Nachweis luetischer Veränderungen des Liquor cerebrospinalis.

[Aus dem Bakteriologischen Institut zu Jena (Leiter: Prof. Dr. Abel).]

Von Dr. **Fr. Reichert,** Assistenten des Instituts.

Ueber die dritte Modifikation der Meinickeschen Flockungsreaktion (D.M.) liegt uns heute eine ausgiebige Literatur vor, aus der die Brauchbarkeit der Methode zum serologischen Luesnachweis hervorgeht. Auch in unserem Laboratorium wurden mit der Reaktion die gleichen günstigen Erfahrungen gemacht. Unsere Ergebnisse sind in einer Arbeit von Bering niedergelegt. Er erzielte volle Uebereinstimmung zwischen

Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Wa.R. und D.M. in 90,81 Proz., mäßige Uebereinstimmung in 2,17 Proz., differenten Ausfall in 7,02 Proz. Seine Untersuchungen erstreckten sich ausschließlich auf die Prüfung von Blutseren. Spezielle Untersuchungen von Liquor cerebrospinalis aber hat Bering nicht durchgeführt, und auch bei anderen Autoren konnten wir darüber keine ausführlichen Angaben finden. Wir halten es daher für angezeigt, diese Lücke auszufüllen, und das besonders deshalb, weil die Untersuchung des Liquor nach Meinicke beachtenswerte Eigenheiten bietet.

In der Zeit vom 15. Sept. 1922 bis 15. März 1923 wurden bei uns 50 Liquores nach Wa.R. und D.M. geprüft. Die Untersuchung mit der Wa.R. wurde, soweit es die eingesandten Liquormengen nur irgend zuließen, in abgestuften Verdünnungen, d. h. bei Verwendung von 0,5, 0,4, 0,2 und 0,1 ccm Material, ausgeführt. Die Ergebnisse dieser Versuche, verglichen mit den gleichzeitig erzielten Resultaten der D.M., sind in der nachstehenden Tabelle niedergelegt, wobei sich die Ausfälle der Wa.R. stets auf die geringste bei der betreffenden Untersuchung verwandte Serummenge beziehen.

Art des Materials	Zahl der Fälle	Prozente
D.M. und Wa.R. dem Grade nach übereinstimmend positiv	3	6
D.M. und Wa.R. übereinstimmend negativ	18	36
Wa.R. +++ bis ++++ positiv, D.M. ± bis ++ positiv	11	22
Wa.R. +++ bis ++++ positiv!! D.M. negativ	18	36

Bei diesen Resultaten springt der gewaltige Prozentsatz der vollkommenen Versager der D.M. in die Augen. In 36 Proz. der Fälle gibt die Meinickesche Reaktion bei stärkstem Ausfall der Wa.R. gar nicht an; und in 22 Proz. bestehen schwere graduelle Differenzen zwischen beiden Methoden. Besonders beachtenswert ist, daß bei 5 der 18 völligen Versager sich das Resultat der Wa.R. auf eine Liquormenge von nur 0,1 bezieht, während bei den anderen 13 Proben die Verdünnung des Liquors wegen Materialmangel nur bis 0,3 oder 0,2 durchgeführt werden konnte.

Was hat solche Unzulänglichkeit bei einer Reaktion, die, mit Blutserum ausgeführt, vollauf befriedigt, zu bedeuten?

Das Wesen beider Reaktionen ist eine Präzipitation, die bei der Wa.R. zu makroskopisch nicht sichtbaren, bei der D.M. aber zu optisch leicht wahrnehmbaren Flocken führt, falls ein positiv reagierendes Material vorliegt. Das Präzipitat ist ein Reaktionsprodukt aus den Lipoiden des betreffenden Extraktes und dem luetischen Reaktionskörper (Wassermann-Körper) im Blutserum oder Liquor. Die Möglichkeit der einwandfreien Ausführung der Wa.R. mit Liquor beweist uns, daß diese Mikroflockung bei positivem Material hier regelmäßig eintritt, während aus dem häufigen Versagen der D.M. hervorgeht, daß bei dieser Reaktion der Entstehung der Makroflockung im Liquor Hindernisse im Wege stehen, welche bei der Verwendung von Blutserum fortfallen. Als nächstliegenden Grund hierfür sollte man quantitative Unterschiede in der Konzentration des Wassermann-Körpers im Blutserum und Liquor annehmen. Bei dieser Auffassung würde die Menge des Reaktionskörpers im Blutserum wohl ausreichen, um eine positive D.M. herbeizuführen, falls sie zur Erzielung einer positiven Wa.R. genügt, während die angenommene verminderte Konzentration des luetischen Antikörpers im Liquor zwar zur Anstellung der Wa.R. noch hinreicht, aber die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

grobe Flockung der D.M. nicht mehr herbeiführen kann. Diese Deutung könnte sich auf die Tatsache, daß die Wa.R. mit kleineren Serummengen ausführbar ist als die Flockungsreaktionen (Nathan), und auch darauf, daß wir bei der Liquoruntersuchung nach Wassermann auch die Menge des Untersuchungsmaterials oft erheblich steigern müssen, verglichen mit der Wa.R. des Blutserums (d. h. 0,5—0,2 statt nur 0,1), stützen.

Bei näherer Prüfung aber muß man von dieser Auffassung Abstand nehmen. Es ist bekannt, daß die D.M. im Blutserum oft sogar eher angibt als die Wa.R. bei frischen Infekten oder in behandelten Fällen länger positiv ausfällt als die Komplementablenkungsmethode. Daraus ergibt sich, daß der D.M.-Extrakt so eingestellt ist, daß er bei einer Menge von 0,2 Serum ebenso feine Ausschläge gibt wie die Wa.R. bei 0,1 Serum. Man kann also die Serummenge von 0,2 bei der D.M. als diejenige Menge bezeichnen, welche der Serummenge von 0,1 bei der Wa.R. äquivalent ist; d. h. es muß eine Menge von 0,1 eines beliebigen Serums nach Wassermann untersucht, dasselbe Resultat ergeben wie eine Menge von 0,2 desselben Serums nach D.M. geprüft. Bei den 5 Fällen der von uns genannten vollkommenen Versager der D.M. aber ergab 0,1 Liquor noch eine 4-fach positive Wa.R., während die D.M. trotz Vorhandensein der äquivalenten Liquormenge (0,2) gänzlich fehlschlug. Der Kontrast im Ausfall der Methoden tritt bei diesen 5 Fällen besonders deutlich hervor. Aber auch die anderen 13 Seren, bei denen die Verdünnung des Untersuchungsmaterials bei Anstellung der Wa.R. nur bis 0,3 oder 0,2 ausreichte, zeigen die Unzulänglichkeit der D.M. bei der Liquoruntersuchung deutlich. Denn auch diese Liquores hätten zweifellos noch bei Quantitäten von nur 0,1 starke positive Ausschläge gegeben, denen negative der D.M. gegenüberstehen.

Diese Beobachtung nötigt uns zu folgenden Annahmen:

1) Die luetischen Antikörper im Blutserum und Liquor cerebrospinalis weisen, abgesehen von etwaigen quantitativen auch qualitative Verschiedenheiten auf.

2) Im Blutserum sind Stoffe vorhanden, welche die Ausflockung verstärken und damit die sichtbare Flockenbildung bei Anwendung des Meinicke-Extraktes erst ermöglichen (Lipoide, Phosphatide) während diese Körper dem Liquor ganz oder teilweise fehlen.

3) Im Liquor spielen flockungshemmende Kräfte mit, die im Serum fortfallen. Diese letztere Annahme erscheint uns unwahrscheinlich, da wir keinen Bestandteil des Liquor anzugeben wüßten, der in dieser Richtung wirken könnte. Ein eventuell höherer Eiweißgehalt entzündlich veränderter Liquores kommt im Sinne einer Schutzkolloidwirkung, welche die Präzipitation benachteiligen könnte, nicht in Betracht, da wir in den genannten 5 Fällen auch bei einer Anwendung von 0,5 Liquor keine Störung der Wa.R. sahen, deren Eintritt ja auch vom Auftreten einer Flockung abhängt.

In dieser Lage wäre es angebracht gewesen, zu untersuchen, ob sich nicht bei einer Vermehrung der Liquormenge bei der D.M. oder durch eine Verstärkung des Extraktes etwa durch Cholesterine oder Lezithine bessere Resultate erzielen lassen. Eine solche Aenderung der Versuchsanordnung ist aber nicht angängig. Denn eine Steigerung des Liquorgehaltes bei proportionaler Erhöhung der Extraktmenge würde nur ein größeres Gesamtvolumen ergeben, aber keine Vermehrung der Konzentration des Liquors. Eine relative Erhöhung des Liquorgehaltes

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

oder ein Zusatz von Cholesterin aber ist nicht zulässig, da der käufliche D. M.-Extrakt so eingestellt ist, daß er nur bei dieser Zusammensetzung und nur bei Verwendung von 0,2 Untersuchungsflüssigkeit und 0,8 Extraktverdünnung richtig arbeitet.

Wir kommen also zu nachstehenden Ergebnissen:

1) Die D. M. ist in ihrer zurzeit geübten Form, mit dem käuflichen Extrakt angestellt, ungeeignet zur Untersuchung des Liquor cerebrospinalis.

2) Die genannte Beobachtung weist auf einen Qualitätsunterschied des Wassermann-Körpers im Liquor und Blutserum hin oder auf das Vorhandensein von Stoffen im Blutserum, welche die Flockenbildung verstärken und damit das Zustandekommen einer sichtbaren Flockung ermöglichen, während diese Körper dem Liquor ganz oder teilweise fehlen.

Zum Schluß sei bemerkt, daß wir über die Brauchbarkeit der Sachs-Georgi-Reaktion zur Untersuchung des Liquor aus eigener Erfahrung nichts aussagen können.

Literatur.

Bering, Med. Klin. 1922. Nr. 32. — Nathan, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 34. S. 124.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Untersuchungen zur Prophylaxe der Dermatomykosen.

[Aus der Untersuchungsabteilung (Leiter: Prof. Dr. Carl Prausnitz) des Hygienischen Instituts der Universität Breslau (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von **Walter Rosenstein**, Medizinalpraktikant am Institut.

Um die Uebertragung von Haut- und Haarkrankheiten, besonders der Trichophytien, in der Rasierstube zu verhindern, sind Desinfektionsmaßnahmen von großer Bedeutung. Da für die meisten dort verwandten Gegenstände eine physikalische Desinfektion nicht in Betracht kommt, so muß man dafür geeignete chemische Mittel zu finden suchen.

Auffallenderweise haben noch wenige Forscher versucht, diese Frage experimentell zu lösen.

Daß im allgemeinen Pilzsporen durch chemische Mittel nicht leicht abzutöten sind, folgt aus den Versuchen von Lode am Aspergillus, der durch 1-prom. Sublimat selbst in 1 Std. nicht getötet wird. Mit anderen Hyphomyceten scheint es nach einem Teil der Untersuchungen ähnlich zu sein. Plaut zitiert eine Petersburger Dissertation von Tischutkin, derzufolge nach 1-stünd. Einwirkung von 1-prom. Sublimat aus einem Favusscutulum noch Pilze gezüchtet wurden. Löwenfeld untersuchte die Einwirkung verschiedener Desinfektionsmittel auf Stämme von Trichophyton gypseum und crateriforme; er legte Partikelchen von auf Maltoseagar gewachsenen Kulturen auf bestimmte Zeiten in die Desinfektionsflüssigkeit und verimpfte nach Spülung in Wasser auf neue Maltose-Agarröhrchen. In analoger Weise verfuhr er mit Haaren und Schuppen von Bartflechtekranken und verwendete nur die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Resultate, wo eine gleichzeitig angelegte Kontrolle positives Resultat ergab. Nach seinen Angaben müssen Alkohol 80 Proz., Formalin 2 Proz., Karbolsäure 2,5 Proz. $^1/_2$ Std. einwirken, um eine sichere Abtötung zu erzielen; bei Quecksilberoxycyanat 1-prom. genügte auch diese Zeit nicht. Einen regelmäßigen Unterschied zwischen Kultur und tierischem Material stellte er nicht fest. Da die Uebertragung geringer Mengen des Desinficiens nicht ausgeschlossen war, wird man gut tun, seine Zeiten zunächst als Minimalzeiten anzusehen.

Auch Landau untersuchte die Widerstandsfähigkeit von Trichophyton; er schwemmte gut bewachsene Bierwürze-Schrägagarkulturen von Trichophyton granulosum mit sterilem Leitungswasser ab, so daß er eine trübe Emulsion von Pilzsporen erhielt. Von dieser Emulsion setzte er je 1 Tropfen zu den desinfizierenden Lösungen zu und impfte von diesem Gemisch nach abgemessenen Zeitabständen auf Schrägagar- und Bouillonröhrchen ab. Es wurde also: 1) nur mit in Flüssigkeit verteilten Pilzsporen gearbeitet, 2) war das Verhältnis von Infektionsmaterial zum Desinficiens sehr ungünstig, 3) wurde das Desinfiziens in keiner Weise entfernt, sondern in die angelegten Kulturen mitübertragen. Auf diese Weise kommt er zu außerordentlich geringen Zeiten; er gibt an, daß Sublimat 1-prom. in 1 Min., 75-proz. Alkohol schon in 30 Sek. Abtötung erzielt hat. Während Löwenfeld den Versuch gemacht hat, die reine Desinfektionswirkung zu prüfen, stellen die Ergebnisse Landaus im wesentlichen Resultate der Entwicklungshemmung, nicht der Abtötung dar.

Mit Rücksicht auf diese Widersprüche erschien eine erneute Aufnahme dieser Untersuchungen und eine Prüfung einiger neuer Desinfektionsmittel angezeigt. Da wir bei der Züchtung der pathogenen Haut- und Haarpilze noch weit davon entfernt sind, einen optimalen Nährboden zu besitzen, so war eine Kontrolle der Reagenzglasversuche durch das Tierexperiment dringend erwünscht. Dazu war ein Pilz erforderlich, der auf künstlichen Nährböden gut sichtbar ist und zugleich große Virulenz für Laboratoriumstiere besitzt. Diese Eigenschaften weist das Achorion Quinckeanum auf, dessen Kultur mir von der hiesigen Universitäts-Hautklinik überlassen wurde; dafür, sowie für die vielen Ratschläge, mit denen er mir während meiner Arbeit beigestanden hat, sei an dieser Stelle Herrn Oberarzt Dr. Jessner vielmals gedankt.

Das Achorion Quinckeanum, der Erreger des Mäusefavus, ist nach Plaut ein der Trichophyton-Gruppe sehr nahestehender Dermatophyt. Er wächst auf zuckerhaltigen Nährböden gut und ruft beim Meerschweinchen konstant ein typisches Krankheitsbild hervor; auch für Menschen ist er gelegentlich pathogen.

Als Nährboden wurde der von Sabouraud angegebene Maltose-Peptonagar benutzt, jedoch unter Verwendung von Peptonum liquidum Gans und reinster Maltose Kahlbaum. Als flüssiger Nährboden wurde eine nicht neutralisierte Fleischwasserbouillon mit 1 Proz. Pepton und 4 Proz. Maltose benutzt, die in 1 cm hoher Schicht in 300 ccm-Erlenmeyer-Kölbchen abgefüllt wurde. Auf dem Agar wächst das Achor. Quinck. bei Zimmertemperatur im Halbdunkel in 3—4 Tagen zu 2—3 mm großen, kugelsegmentförmigen, weißen, flaumigen Kolonien aus, die am Nährboden fest haften und durch Spülung nicht abzulösen sind. In der Bouillon sieht man nach 6—8 Tagen Knäuel von Pilzfäden herumschwimmen, die mit der Zeit an Zahl und Größe zunehmen und schließlich den ganzen Boden bedecken ohne die Bouillon zu trüben.

Bei den angestellten Tierversuchen folgte ich den Angaben von Bloch. Die glatt rasierte Bauchhaut des Meerschweinchens wird mit Schmirgelpapier leicht wundgescheuert und ein Stück Kulturmasse mit einem Gummistopfen kräftig darauf eingerieben. Nach 2 Tagen sind die Reizerscheinungen, die das Reiben hervorgerufen hat, verschwunden, und die Haut bietet normalen Befund. Am 7. Tage sieht man die Anfänge einer Scutulumbildung auf der Haut, zuerst ohne Entzündungserscheinungen. In den folgenden Tagen wächst das Scutulum, in der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Umgebung treten Entzündungserscheinungen auf, die ganze Hautstelle wird deutlich induriert; unter dem Scutulum quillt eine serös-eitrige Flüssigkeit hervor. Am 12.—14. Tage erfolgt meist spontan Abstoßung des Scutulums, die Haut bietet wenige Tage darauf keinen krankhaften Befund mehr. Zur Zeit der Erkrankung sind in den betroffenen Stellen Pilze im Kalilaugenpräparat leicht und sicher nachzuweisen.

Einmalige Erkrankung hinterläßt beim Meerschweinchen in allen Fällen eine sichere Allergie, die sich über die ganze Haut erstreckt. Wenn man ein solches Tier nochmals infiziert, tritt 2 Tage darauf am Ort der Reinfektion eine heftige Entzündung auf, die 4—5 Tage anhält; manchmal ist die Haut von einer entzündlichen Kruste bedeckt, zur Bildung eines Scutulums kommt es nicht. Die Abtrennung einer solchen Reaktion von den durch die Inokulation hervorgerufenen traumatischen Reizerscheinungen ist in manchen Fällen nicht ganz leicht. Jedoch bei vorsichtig ausgeführter Impfung ist die traumatische Reaktion nach 1, spätestens 2 Tagen verschwunden; länger anhaltende Erscheinungen sprechen also für allergische Reaktion.

Desinfektionsversuche mit Achorion Quinckeanum.

a) Reagenzglasversuche.

Zu den angestellten Versuchen wurden gut gewachsene, 3 bis 4 Wochen alte Schrägagarkulturen in 1 qcm große Stücke geteilt. Von jeder Kultur wurde 1 Stück als Kontrolle auf neue Röhrchen verimpft. Die übrigen Stücke wurden in die desinfizierende Flüssigkeit so eingebracht, daß sie mit der bewachsenen Fläche nach unten auf der Flüssigkeit schwammen, wobei darauf zu achten war, daß keine Luftblasen miteingeschlossen wurden. In kurzen Abständen wurden durch Schaukeln der Schale die Stücke in der Flüssigkeit bewegt. Nach abgemessener Zeit wurden die Stücke herausgenommen, und das Desinficiens durch chemische Neutralisation oder gründliche Spülung entfernt. Dann wurden die Stücke mit dem Platinspatel auf neue Agarröhrchen gebracht, dort zerkleinert und in die aufgerauhte Oberfläche des Agars eingedrückt. Die Röhrchen wurden dann 3 Wochen lang beobachtet.

Die mit Formalin behandelten Stücke wurden nach der Herausnahme aus dem Desinficiens auf 1 Min. in sterilen Ammoniak gelegt; da Vorversuche gezeigt hatten, daß das Wachstum der Kulturen dadurch nicht beeinträchtigt wird, wurde ein Ueberschuß von Ammoniak angewendet. Darauf wurden die Stücke 1 Min. lang in sterilem dest. Wasser gespült. Bei den Versuchen mit Sublimat war die Neutralisierung der letzten Reste des Desinficiens durch Schwefelammon nicht anwendbar, weil der Vorversuch gezeigt hatte, daß dieses dem Wachstum des Pilzes schädlich ist und ihn schon nach 3 Min. abtötet. Hier, sowie bei den anderen Desinfektionsmitteln, bei denen es eine chemische Neutralisierung nicht gibt, wurden die Kulturstücke 3mal je 1 Min. in dest. Wasser gründlich gespült.

Sämtliche Versuche wurden wiederholt, ergaben aber stets das gleiche Resultat.

Es konnte gegen diese Versuchsanordnung der Einwand erhoben werden, daß das Desinfektionsmittel in die mit Pilzsporen durchwachsenen oberen Schichten des Agars nicht genügend eindringt. Diese Bedenken wurden durch folgenden Versuch entkräftet: Mit Schwefelammonium versetzter Agar wurde mit 1-prom. Sublimat übergossen. Schon nach

Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

5 Min. war der Agar bis zur Tiefe von 2 mm geschwärzt, nach 15 Min. die Schwärzung 5 mm tief vorgedrungen. Ebenso wurde Fuchsin-Sulfit-Milchzuckeragar (Endo-Agar) mit 1-proz. Formalin übergossen, wobei die Rötung in 5 Min. 5 mm tief vordrang.

Unzweifelhaft stellt die gewählte Versuchstechnik mit der Verwendung von Agarmaterial eine Erschwerung der Verhältnisse für das Desinficiens dar, insbesondere gegenüber der Versuchsanordnung von Landau, der nur eine Pilzsporenaufschwemmung benutzt hatte. Bei meiner Versuchsanordnung wird dem Umstande Rechnung getragen, daß auch unter natürlichen Bedingungen das Desinficiens auf Pilzsporen und Hyphen einwirken muß, die auf vollkommen trockenen Haaren und Hautschuppen aufsitzen, zum Teil sogar in deren Tiefe eingeschlossen sich befinden. Denn das lose Gewebe von Pilzfäden auf der Agarkultur schließt doch noch Luft in sich und erschwert der Flüssigkeit den Zutritt; so werden die Verhältnisse den in der Wirklichkeit vorhandenen ähnlicher.

Viel leichter scheinen die Bedingungen bei der flüssigen Kultur zu sein, denn hier wird das Desinficiens sofort und leicht an alle Pilzindividuen (Hyphen und Sporen) herangelangen können. Immerhin sind die Unterschiede nicht so groß, wie zunächst zu erwarten war. Mit dem Desinfektionsmittel, das unerwartet die schlechtesten Resultate ergeben hatte, der 1-prom. Sublimatlösung, wurden die Versuche unter Verwendung von Pilzen aus flüssiger Kultur wiederholt. Ein ca. 2 mm großes Pilzfädenknäuel wurde mit der Oese aus der Bouillon in Sublimat übertragen und darin umhergeschwenkt. Nach abgemessener Zeit wurde es herausgenommen, 3mal in Wasser gespült, auf Agar ausgebreitet und in die aufgerauhte Schicht eingedrückt. Das dabei erhaltene Resultat war mit dem bei fester Kultur gewonnenen identisch.

b) Tierversuche.

Nach Feststellung, welche Einwirkungszeiten für die verschiedenen Desinfektionsmittelkonzentrationen im Kulturversuch zur Abtötung genügt hatten, wurde nunmehr der Tierversuch angestellt.

Stückchen von Agarkulturen wurden in ganz entsprechender Weise, wie es oben beschrieben wurde, desinfiziert, neutralisiert und gespült, bzw. nur gespült und dann in die rasierte und wund gescheuerte Bauchhaut gesunder, ungebrauchter Meerschweine eingerieben. Gleichzeitig wurden in jedem Fall Kontrolltiere mit undesinfiziertem Material beimpft. Von jeder Probe wurden 2 Tiere geimpft, die stets den gleichen Krankheitsverlauf, wenn auch mit geringen individuellen Unterschieden, zeigten.

Die Ergebnisse stimmten im wesentlichen mit den bei dem Kulturversuch gewonnenen Resultaten überein. Doch zeigte sich in 2 Reihen (3-proz. Formalin und 1-proz. Sublimat) der Tierversuch dem Kulturverfahren an Empfindlichkeit überlegen. In diesen Fällen wurde der Versuch mit längerer Einwirkungsdauer wiederholt.

Das Tierexperiment gestattet bei Impfungen mit Pilzen noch eine weitere Sicherung der Diagnose unter Verwendung der allergischen Reaktion. Nachdem bei den Kontrolltieren die Krankheitserscheinungen völlig verschwunden waren, wurden zu diesem Zwecke sämtliche Tiere nochmals infiziert. Dadurch, daß nun die bisher gesund gebliebenen Tiere erkrankten, während die erkrankt gewesenen allergisch reagierten, wurde der strenge Beweis erbracht, daß die Tiere, die keine Krankheits-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erscheinungen aufgewiesen hatten, durch eine ausreichende Desinfektion vor der Erkrankung geschützt worden waren.

Die mit der geschilderten Versuchsanordnung erhaltenen Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Des. Mittel	Konzentration	Einwirkungszeit, nach welcher			
		a) Kulturen		b) Tiere	
		noch wuchsen	steril blieben	erkrankten	gesund blieben
Sublimat	[1]) 1-prom.	30 Min.	45 Min.	45 Min.	60 Min.
Alkohol	70-proz.	30 „	45 „	.	45 „
Formalin	1 „	30 „	45 „	.	45 „
Formalin	3 „	15 Sek.	30 Sek.	30 Sek.	1 „
Wasserstoffsuperoxyd	3 „	30 Min.	45 Min.	.	45 „
Phobrol	1 „	2 „	3 „	.	3 „
Grotan	0,5 „	3 „	5 „	.	5 „
Sagrotan	1 „	20 „	30 „	.	30 „
Phenol [2])	3 „	20 „	30 „	.	30 „
„ [2])	5 „	5 „	10 „	.	10 „

Wie aus nachfolgender Tabelle ersichtlich, findet ein Wachstum bei den desinfizierten Kulturen oft erst mit erheblicher Verspätung statt. (Die Zahlen geben den Tag an, an dem ein Wachstum der Kultur wahrnehmbar war.)

Des. Mittel		Dauer der Einwirkung (in Minuten)												
		0	1/4	1/2	3/4	1	3	5	10	15	20	30	45	60
Sublimat	1-prom.	3	4	4	4	4	5	7	11	13	13	15	—	—
Alkohol	70-proz.	3	3	3	4	4	4	4	4	4	7	6	—	—
Formalin	1 „	3	.	.	.	.	.	9	11	13	15	15	—	—
Formalin	3 „	3	12	—	—	—	—	—	.	.	.	.	.	.
Wasserstoff-superoxyd	3 „	3	—	—	—	—	—	5	5	7	8	8	—	—
Phobrol	1 „	3	3	3	4	6	—	—	—	—	—	—	.	.
Grotan	0,5 „	4	.	.	.	4	7	—	—	—	—	—	.	.
Sagrotan	1 „	4	.	.	.	3	5	5	7	9	9	—	—	—

Beim Tierversuch konnte ein Einfluß der Einwirkungsdauer weder auf die Länge der Inkubationszeit noch auf die Schwere der Erkrankung festgestellt werden.

Von den untersuchten Mitteln steht demnach an erster Stelle 3-proz. Formalin; es hat den Vorzug, daß es unschädlich ist, ein Nachteil ist sein intensiver, widerlicher Geruch. Es wird daher für Gegenstände, an denen der Geruch haftet, nur dann Anwendung finden, wenn diese hinreichend gelüftet oder mit Ammoniak nachbehandelt werden können. Gut in ihrer Wirkung sind Phobrol und Grotan, die den Vorzug eines angenehmen Geruches haben; ihr Preis ist mäßig und auch sie sind in den angegebenen Verdünnungen unschädlich. Ungeeignet für den Gebrauch im Barbierladen ist Sublimat; es ist in der dort wichtigsten Beziehung wenig wirksam, ist für Desinfektion von Metallgegenständen gänzlich unbrauchbar, ist sonst ein schweres Gift und zum Teil schon recht teuer. Auch Alkohol und Wasserstoffsuperoxyd sind nicht zu empfehlen. Für Händedesinfektion werden Phobrol und Grotan am ge-

1) Die Verwendung von Bouillonmaterial führte zu demselben Ergebnis.
2) Nach Versuchen der Med.-Prakt. Fräulein A. Koppel.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eignetsten sein. Die Wäschedesinfektion hat weiterhin durch Kochen zu erfolgen.

In den vom Ministerium des Innern vom 18. Juni 1918 — M. 10897 — veröffentlichten „Maßnahmen zur Bekämpfung der Pilzerkrankungen der Haare" werden zur Händedesinfektion 1-prom. Sublimat oder 3-proz. Karbolsäurelösung angegeben, für Instrumente Alkohol oder Wasserstoffsuperoxyd. Vielleicht ließen sich diese Vorschriften unter Berücksichtigung der vorgelegten Resultate abändern.

Am Schluß meiner Arbeit muß ich Herrn Prof. Dr. Carl Prausnitz meinen Dank aussprechen sowohl für die Anregung, wie ganz besonders für die vielen Ratschläge, mit denen er mir in theoretischen wie technischen Fragen zur Seite gestanden hat.

Literaturangaben.

Blaschko, Berlin. klin. Wochenschr. 1893. S. 814. — Bloch, Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 93. 1908. S. 157. — Bruns, Handb. d. Hyg. v. Weyl. Supplbd. 2. S. 145. — Hanawa, Dermat. Wochenschr. Bd. 57. S. 939. — Jadassohn, Berlin. klin. Wochenschr. 1918. S. 489. — Kausch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 31. S. 437. — Landau, Med. Klin. 1918. S. 1012. — Lode, Arch. f. Hyg. Bd. 42. 1902. S. 107. — Löwenfeld, Wien. klin. Wochenschr. 1919. S. 942. — Meirowski, Münch. med. Wochenschr. 1918. S. 489; Minist.-Blatt f. Medizinal-Angeleg. 1918. S. 256. — Philipp, Dermat. Wochenschr. Bd. 66. 1918. S. 17. — Plaut, Handb. v. Kolle-Wassermann, 2. Aufl. Bd. 5. S. 65 u. 74. — Saves, Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 121, 195, 161. — Schütz, Münch. med. Wochenschr. 1918. S. 593. — Zumbusch, Ebenda. 1918. S. 675.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren.

XXV. Mitteilung [1]).

Ueber die Erscheinungen des Rezidivierens.

Von Dr. **E. Saul,** Berlin.

Mit 5 Abbildungen im Text.

Unter dem Begriff „Rezidiv" verstehen wir das Wiederaufleben eines pathologischen Prozesses in derjenigen Phase des Krankheitsverlaufes, die wir als Rekonvaleszenz bezeichnen. Bei den Spätrezidiven erklärt das schließliche Sistieren der Vorgänge, welche die Abwehr der Krankheit betreffen, das Wiedererwachen der entsprechenden pathologischen Erscheinungen. Für die Frührezidive müssen wir jedoch voraussetzen, daß die ätiologische Noxe im Kampf gegen die Abwehr des befallenen Organismus biologische Aenderungen erfahren hat, gegen welche die Immunitätsvorgänge, die durch die primäre Erkrankung hervorgerufen wurden, keinen Schutz gewähren. Die Voraussetzung, daß Elementarorganismen, zu denen, ebenso wie alle Metazoenzellen, auch die Tumorzellen gehören, unter Einwirkung eines geeigneten Agens biologische Aenderungen erfahren, kann sowohl an Bakterien wie an Protozoen bewiesen werden. — Was zunächst die Bakterien betrifft, so möchte ich

1) Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922 usw.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

über Versuche berichten, die ich vor einer Reihe von Jahren im Hygienischen Institut durchgeführt und damals in einer vorläufigen Mitteilung veröffentlicht habe (vgl. Hyg. Rundsch. 1900. Nr. 12).

Ich mischte steriles Glyzerin in bestimmten Verhältnissen mit steriler Bouillon und stellte auf diese Weise eine Reihe von Glyzerinkonzentrationen her. Die Mischungen wurden alsdann auf eine Serie steriler Reagenzgläser verteilt, und jedes Glas mit einer Oese einer 48-stündigen, bei 37° gezüchteten Bouillonkultur des Staphylococcus albus geimpft. Ein Teil der Gläser wurde bei Zimmertemperatur, ein anderer Teil bei Bruttemperatur gehalten. Die Entwicklung der Infektion kontrollierte ich in regelmäßigen Intervallen. Naturgemäß findet der Staphylococcus in den mit Bouillon hergestellten Glyzerinkonzentrationen verhältnismäßig günstige Bedingungen, sich gegen die Einwirkung des schädlichen Agens, des Glyzerins, zu behaupten. Er tritt in einen Widerstreit günstiger und ungünstiger Bedingungen, wie ihn der Staphylococcus auch dann vorfindet, wenn er in die Gewebe eines Wirtes tritt; auf der einen Seite die Gewebssubstanzen und die Körpertemperatur, auf der anderen die bakterienfeindliche Energie des lebenden Organismus. Folgende Beispiele mögen die Versuchsergebnisse erläutern.

I. Unter geeigneten Bedingungen gelingt der Nachweis, daß Staphylokokkeninfektionen im Reagenzglas rezidivieren.

Beispiel: Sterile Bouillon wurde mit 5-proz. sterilen Glyzerins gemischt, mit einer Oese einer 48-stünd. Bouillonkultur des Staphylococcus albus geimpft und bei Bruttemperatur gehalten. Die Zahl der mit einer Oese ausgesäten Keime betrug:

unmittelbar nach der Impfung	2 000[1])	nach 25 Tagen	10
nach 1 Tage	80 000	„ 30 „	160 000
„ 5 Tagen	3 200 000	„ 40 „	64 000
„ 10 „	800	„ 50 „	40 000
„ 15 „	22	„ 60 „	400
„ 20 „	2	„ 90 „	2 400

II. Erreicht der Glyzeringehalt der Bouillon die durch die Konzentration 30 Proz. bezeichnete Grenze, so kann das Rezidiv der Infektion eintreten oder ausbleiben.

Beispiel: Sterile Bouillon wurde mit 30-proz. sterilen Glyzerins gemischt, mit einer Oese einer 48-stünd. Bouillonkultur des Staphylococcus albus geimpft und bei Zimmertemperatur gehalten.

A. Die rezidivierende Infektion.

Die Zahl der mit einer Oese ausgesäten Keime betrug:

unmittelbar nach der Impfung	1200	nach 8 Tagen	83
nach 1 Tag	2000	„ 9 „	200
„ 2 Tagen	400	„ 10 „	2 400
„ 3 „	65	„ 20 „	8 000
„ 4 „	44	„ 30 „	80 000
„ 5 „	40	„ 40 „	40 000
„ 6 „	31	„ 50 „	80 000
„ 7 „	67	„ 60 „	1 400

1) Bei der Feststellung der Keimzahlen bediente ich mich statt der üblichen Plattenmethode folgenden Verfahrens: Ich stellte 2—3 Verdünnungen mit je 5 ccm geschmolzenen Agars her; die Verdünnungen ließ ich im Reagenzglas schräg erstarren. War die Zahl der Kolonien im ersten Agarglas so groß, daß sie durch direkte Zählung nicht konstatiert werden konnte, so bestimmte ich die Zahl der Kolonien mittels der Verdünnungen. Dabei fand ich, daß die Kolonienzahlen der Verdünnungen in zwei

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

B. Die nicht rezidivierende Infektion.

Die Zahl der mit einer Oese ausgesäten Keime betrug:

unmittelbar nach der Impfung	800	nach 5 Tagen	4
nach 1 Tag	400	„ 6 „	4
„ 2 Tagen	200	„ 7 „	3
„ 3 „	42	„ 8 „	0
„ 4 „	19		

III. In dem Konzentrationsintervall zwischen 2 Proz. und 20 Proz. rezidivierte die Infektion fast regelmäßig.

Beispiel: Sterile Bouillon wurde mit 2-proz. sterilen Glyzerins gemischt, mit einer Oese einer 48-stünd. Bouillonkultur des Staphylococcus albus geimpft und bei Bruttemperatur gehalten. Die Zahl der mit einer Oese ausgesäten Keime betrug:

unmittelbar nach der Impfung	1 600	nach 12 Tagen	60 000
nach 1 Tag	80 000	„ 13 „	40 000
„ 5 Tagen	40 000	„ 14 „	40 000
„ 6 „	12 000	„ 15 „	80 000
„ 7 „	1 800	„ 20 „	2 400
„ 8 „	14 000	„ 30 „	6
„ 9 „	12 000	„ 40 „	4 000
„ 10 „	40 000	„ 50 „	6 000
„ 11 „	80 000	„ 60 „	3 600

IV. Ueberschreitet der Glyzeringehalt der Bouillon die durch die Konzentration 30 Proz. bezeichnete Grenze, so rezidiviert die Infektion niemals.

Beispiel: Sterile Bouillon wurde mit 40-proz. sterilen Glyzerins gemischt, mit einer Oese einer 48-stünd. Bouillonkultur des Staphylococcus albus geimpft und bei Zimmertemperatur gehalten. Die Zahl der mit einer Oese ausgesäten Keime betrug:

unmittelbar nach der Impfung	800	nach 10 Tagen	1
nach 1 Tag	200	„ 15 „	1
„ 5 Tagen	5	„ 20 „	0

V. Die Mikroorganismen des Rezidivs sind um ein Beträchtliches resistenter als die Mikroorganismen der primären Infektion.

Beispiel: Sterile Bouillon wurde mit 10-proz. sterilen Glyzerins gemischt, mit einer Oese einer 48-stünd. Bouillonkultur des Staphylococcus albus geimpft und bei Bruttemperatur gehalten. Die Zahl der mit einer Oese ausgesäten Keime betrug:

unmittelbar nach der Impfung	800	nach 23 Tagen	2400
nach 1 Tag	40 000	„ 24 „	2000
„ 5 Tagen	1 600 000	„ 25 „	1600
„ 10 „	400	„ 30 „	3200
„ 15 „	80	„ 40 „	1000
„ 20 „	23	„ 50 „	2000
„ 21 „	16	„ 60 „	400
„ 22 „	3		

Die Zahl der Mikroorganismen der primären Infektion erreichte also das relative Minimum nach 22 Tagen, die Zahl der Mikroorganismen des Rezidivs erst nach 37 Tagen, und es übertraf zu dieser Zeit die

---

aufeinanderfolgenden Agargläsern sich etwa wie 200 : 1 verhielten. Waren an 2 aufeinanderfolgenden Tagen Staphylokokken in den oberflächlichen Schichten der Glyzerinbouillonkulturen des Staphylococcus albus nicht nachweisbar, so wurden sie auch in den tiefen Schichten nicht gefunden. Für sämtliche Versuche gebrauchte ich ein und dieselbe Nadel.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mindestzahl der Mikroorganismen des Rezidivs diejenige der primären Infektion um mehr als das Hundertfache.

Analoge Resultate erzielte ich in Versuchen, bei denen der Typhusbazillus als Testobjekt diente.

Wie bereits erwähnt, ist die geschilderte Untersuchung vor einer Reihe von Jahren im Hygienischen Institut durchgeführt und damals ln einer vorläufigen Mitteilung[1]) veröffentlicht worden. Sie ist die Fortsetzung von Untersuchungen über die Desinfektionsenergie primärer Alkohole, mit Berücksichtigung der Katgutdesinfektion[2]), die ich in der Klinik v. Bergmanns ausgeführt habe. Es sei daran erinnert, daß der chemische Körper, den ich für die geschilderten Rezidivversuche verwendete, das Glyzerin, den tertiären Alkohol der Propylreihe darstellt.

Die Erscheinung, die ich als „Rezidivieren der Infektion im Reagenzglas" bezeichne, ist im Prinzip auch von Kirchner[3]) und Dreyer[4]) bei Untersuchungen bemerkt worden, die sich auf den Keimgehalt der Pockenlymphe beziehen. Da die letztere in ca. 20-proz. Glyzerin konserviert wird, so bemerkten die genannten Autoren die in Rede stehende Erscheinung unter ähnlichen Bedingungen; sie haben dieselbe nicht näher geprüft, weil sie glaubten, daß es sich um Zufälligkeiten handle. Hinsichtlich der Feststellung, daß die Mikroorganismen des Rezidivs resistenter sind als die Mikroorganismen der primären Infektion, finden meine Versuche eine wesentliche Ergänzung durch Experimente, die Ehrlich publiziert hat (München. med. Wochenschr. 1909. Nr. 5). Er wählte als Testobjekt Trypanosomen. Die Krankheitserscheinungen, die durch diese Protozoen bedingt werden, schwinden bekanntlich in dem Maße, wie die Trypanosomen im Blute der infizierten Tiere zur Auflösung gelangen; dabei entstehen Antigene, welche trypanozide Antikörper hervorrufen. Vermöge dieser Antikörper sind Mäuse, die eine Trypanosomeninfektion erlitten haben, immun gegen eine neue derartige Infektion. Da diese Immunität die Mäuse nicht vor Rezidiven schützt, so folgerte Ehrlich, daß die Trypanosomen des Rezidivs im Organismus der infizierten Tiere biologische Aenderungen erfahren, gegen welche die Immunitätsvorgänge, die durch die primäre Erkrankung hervorgerufen wurden, keinen Schutz gewähren. Diese Voraussetzung konnte Ehrlich durch folgenden Versuch erhärten. Er verdünnte das trypanozide Blutserum von Mäusen, die eine Trypanosomeninfektion erlitten hatten, dermaßen, daß es Trypanosomen nicht mehr tötete. Das verdünnte trypanozide Immunserum infizierte Ehrlich mit Trypanosomen und injizierte es Mäusen, die von einer Trypanosomeninfektion geheilt waren. Gemäß der Voraussetzung ergaben die Versuche, daß durch die Einwirkung des verdünnten trypanoziden Immunserums die Trypanosomen biologisch verändert waren; denn die mit den vorbehandelten Trypanosomen geimpften Mäuse erkrankten, obgleich sie durch die vorangegangene Infektion mit nicht vorbehandelten Trypanosomen relative Immunität erlangt hatten. Welche Teile des verdünnten trypanoziden Immunserums die Resistenz der Trypanosomen in den Versuchen Ehrlichs herbeiführten, wissen wir nicht; es ist aber im Hinblick auf die Resistenz, welche die Staphylokokken des Rezidivs in meinen Versuchen gegenüber dem Glyzerin erworben haben, darauf hinzuweisen, daß im Blute

1) Hygien. Rundsch. 1900. Nr. 12.
2) Arch. f. klin. Chir. Bd. 52. 1896.
3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 24. 1897.
4) Ebenda. Bd. 27. 1898.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des Menschen und der Tiere ein Körper existiert, der in seinen chemischen Beziehungen an das Glyzerin erinnert, das Cholesterin.

Die resistenten Protozoen oder Bakterien, welche Mutterzellen von Rezidiven sind, können nach dem Vorgange des Bakteriologen Carl Fraenkel als Ausnahmezellen bezeichnet werden. Es ergibt sich nun die Frage: kommen Ausnahmezellen auch für die Pathologie der Tumorkrankheiten in Betracht? Was zunächst die Primärtumoren betrifft, so folgern wir aus ihrem unizentrischen Wachstum, daß sie aus einer einzelnen Zelle hervorgehen. Da aber der blastomatöse Reiz im allgemeinen nicht eine einzelne Zelle, sondern einen Komplex von Zellen trifft, so muß diejenige Zelle, welche Mutterzelle eines Primärtumors wird, durch ihre Reizbarkeit von anderen Zellen verschieden sein, denen sie morphologisch und funktionell gleicht. v. Hansemann bezeichnete eine Ausnahmezelle, die Mutterzelle eines Primärtumors wird, als anaplastische Zelle. — Für die Genese der Rezidivtumoren müssen wir jedoch Mutterzellen voraussetzen, die durch ihre Resistenz gekennzeichnet sind, denn die große Masse der metastasierten Tumorzellen geht in der Lymphbahn, bzw. in der Blutbahn der Tumorkranken zugrunde, wie der Pathologe Benno Schmidt[1]) nachgewiesen hat. Welche Grade von Resistenz für Tumorzellen in Betracht kommen, die Mutterzellen von Rezidivtumoren werden, lehrt z. B. eine Veröffentlichung des Gynäkologen Küstner (Berlin. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 18. S. 436). Er exstirpierte bei einer 33-jährigen Frau den Uterus wegen eines Collumkarzinoms 1904. Bis 1916 blieb die Patientin völlig gesund. 1917 erlag sie einem Rezidiv. Wie die Kliniker Seitz[2]) und Wintz[2]) bekunden, können die karzinomatösen und sarkomatösen Rezidive jeder Therapie trotzen. Wir dürfen daher folgern, daß die Mutterzellen der Rezidivtumoren die Resistenz, die sie im Organismus der Tumorkranken erworben haben, auf die Zelldeszendenten vererben. — Bei den Tumorkrankheiten können wir nach dem gegenwärtigen Stande der Forschung auf die Existenz von Ausnahmezellen nur a posteriori, aus dem Erfolg der blastomatösen Reizung, schließen. Auf bakteriologischem Gebiete können wir jedoch Ausnahmezellen sowohl durch chemische wie durch morphologische Methoden nachweisen. Bezüglich der chemischen Methoden kann ich an die oben geschilderten Glyzerinversuche erinnern, bei denen der Staphylococcus albus als Testobjekt diente. Was die morphologischen Methoden betrifft, so sind folgende Erfahrungen zu erwähnen: Unter einer großen Zahl von Bakterienzellen, die unter gleich günstigen Bedingungen ausgesät werden, vermögen einzelne Zellen Riesenkolonien hervorzubringen. Die Mutterzellen dieser Riesenkolonien dürfen wir als Ausnahmezellen bezeichnen. Zerlegt man die Riesenkolonien in Schnittserien[3]), so kann nachgewiesen werden, daß selbst innerhalb ein und derselben Kolonie Zellen auftreten, die durch Proliferationsenergie ausgezeichnet sind. Zum Beweise mögen die folgenden Abbildungen dienen.

Fig. 1. Querschnitt einer 3 Monate alten Typhus-Riesenkolonie. Färbung mit Loefflers Methylenblau und Karbolfuchsin. Vergr. 1 : 50.

---

1) Schmidt, M. B., Die Verbreitungswege des Karzinoms usw. Jena 1903.

2) Seitz u. Wintz, Unsere Methoden der Röntgentherapie usw. Berlin u. Wien 1920. S. 412.

3) Die erforderliche Technik habe ich an anderer Stelle beschrieben. Vgl. Berlin. klin. Wochenschr. 1900. Nr. 47; ebenda. 1901. Nr. 50; Dtsch. med. Wochenschr. 1903. Nr. 14; München. med. Wochenschr. 1905. Nr. 10.

Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Man unterscheidet die Pars medullaris und Pars corticalis der Kolonie. Die Pars corticalis zeigt ein System konzentrischer Ringe, das an die Jahresringe der Bäume erinnert. Da äußere klimatische Faktoren, durch welche man die Jahresringe der Bäume erklärt, als Ursache der Typhusringe nicht in Frage kommen, weil die Kulturen dauernd bei Bruttemperatur gehalten wurden, so muß die Ringbildung auf Eigenschaften der Typhusbazillen beruhen, die ihnen immanent sind. Wie die mikroskopische Untersuchung lehrt, entsteht das Ringsystem dadurch, daß während der ontogenetischen Entwicklung der Typhus-Riesenkolonie Perioden auftreten, in denen die Typhuszellen infolge gesteigerter Proliferationsenergie enger aneinandergehäuft sind, als in den Perioden, die den Intervallen zwischen den Ringen entsprechen. Im übrigen genügen die durch die Riesenkolonien repräsentierten Bakterienpflanzen den Postulaten, die für die Urpflanze aufzustellen sind: gesetzmäßige Anordnung und Gleichheit sämtlicher Teile. Das Wort „Urpflanze" ist von unserem Dichter Goethe[1]) erfunden; es ist jedoch aus seinen botanischen Veröffentlichungen nicht ersichtlich, unter welcher Gestalt er sich die Urpflanze vorgestellt hat. Goethe suchte sie in der Umgebung von Messina, angeregt durch die dort herrschende üppige Vegetation.

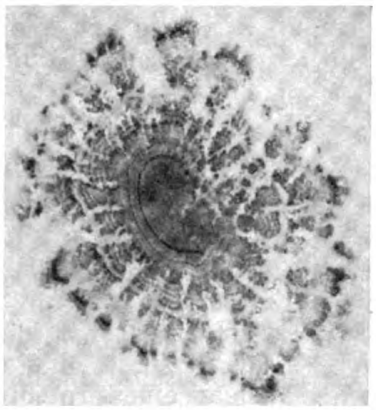


Fig. 1. Typhuspflanze.

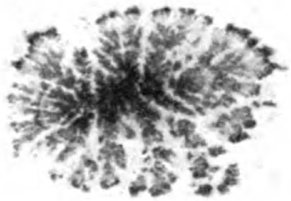


Fig. 2. Staphylokokkenpflanze.

Fig. 2. Querschnitt einer 3 Monate alten Staphylokokken-Riesenkolonie. Färbung mit Löfflers Methylenblau und Karbolfuchsin. Vergrößerung 1 : 50.

Wie die Abbildung lehrt, sind während der ontogenetischen Entwicklung der Staphylokokken-Riesenkolonie zwei Kategorien von Zellsystemen aufgetreten, von denen die eine die Mutterzellen der konzentrischen, die andere diejenige der radiären Zellmassen liefert.

Figg. 3, 4 und 5 zeigen, daß konzentrische und radiäre Zellsysteme auch bei der Ontogenese der aus Coli-Bazillen, Metschnikow-Bazillen und Cholera-Bazillen zusammengesetzten Riesenkolonien erscheinen.

1) Gelegentlich bekundet Goethe in einem Briefe an Nees von Esenbeck (vgl. 27. Briefband Nr. 7486): „In den Tagebüchern meiner italienischen Reise werden Sie nicht ohne Lächeln bemerken, auf welchen seltsamen Wegen ich die Urpflanze suchte, nicht wissend, daß ich die Idee, den Begriff suchte, wonach wir sie uns vorstellen könnten."

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Da wir die Tumoren als Kolonien von Metazoenzellen deuten können, so erinnert uns die Betrachtung der Bakterienkolonien an die Eventualität, daß auch die Tumorzellen, die einen Tumor zusammensetzen, trotz morphologischer und funktioneller Uebereinstimmung, biologisch nicht gleichwertig sind. Diese Eventualität hat für die Strahlentherapie ein eminent praktisches Interesse, da die Strahlen, je nach der Empfindlichkeit der Tumorzellen, sowohl destruierend wie stimulierend wirken können. — Die Betrachtung der Bakterienkolonien, der bakteriologischen Pflanzen, leitet uns noch in anderer Richtung zu den Problemen der Tumorforschung zurück, wenn wir die Frage aufwerfen: Wie überwinden die Tumorzellen bei ihrer Vermehrung den Widerstand angrenzender Gewebe? Was die Bakterien betrifft, so wissen wir ins besondere von den Cholerabazillen, daß sie vermöge eines proteolytischen Stoffwechselproduktes sich den Weg in den Nährboden bahnen. Viele Erfahrungen weisen darauf hin, daß auch Metazoenzellen den Widerstand angrenzender Gewebe durch lytische Stoffwechselprodukte überwinden. Auf diese Weise vermögen die Osteoklasten Knochensubstanz zu arrodieren. Ebenso durchlöchern die Stoffwechselprodukte der Leukozyten und Lymphozyten welche die Eiterherde bilden, angrenzende Gewebe. Per analogiam dürfen wir

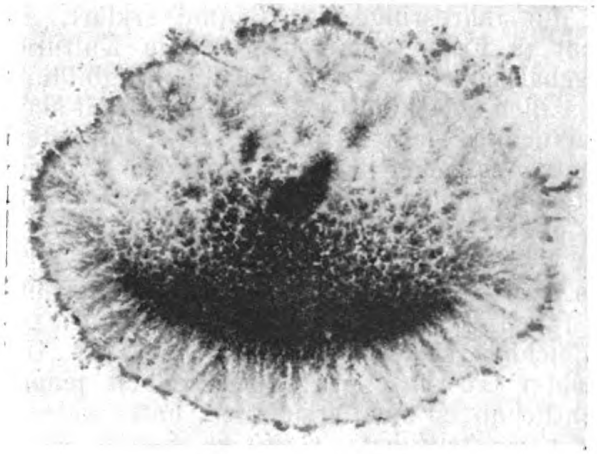


Fig. 3. Coli-Pflanze.

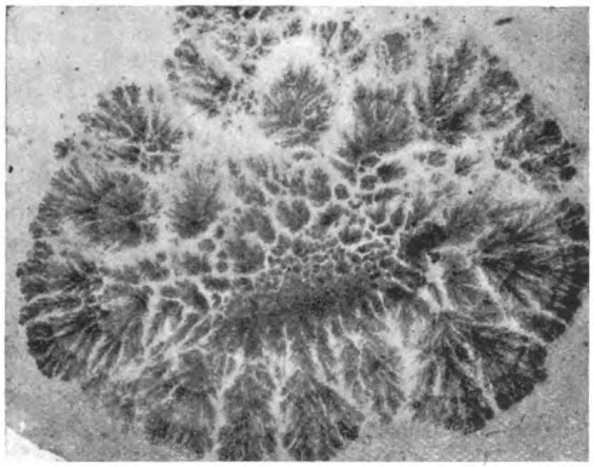


Fig. 4. Metschnikoff-Pflanze.

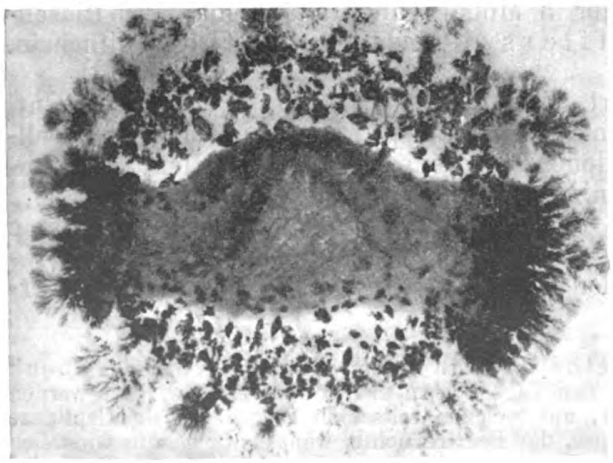


Fig. 5. Cholerapflanze.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

folgern, daß auch die Fähigkeit der Tumorzellen, infiltrierend zu wachsen, auf dem Chemismus ihres Stoffwechsels beruht. Thiersch[1]) nahm bekanntlich für den physiologischen Gleichgewichtszustand des Epithelialgewebes und des Bindesubstanzgewebes lediglich mechanische Momente in Anspruch, indem er das infiltrierende Wachstum der karzinomatösen Epithelproliferationen durch den mangelhaften Widerstand erklärte, den das alternde Bindesubstanzgewebe dem a priori zur Proliferation tendierenden Epithelgewebe entgegensetzt. Thierschs Lehre hat berechtigten Widerspruch erfahren, weil von den alternden Menschen nur ein verhältnismäßig kleiner Teil karzinomatös erkrankt, und weil wir gelegentlich Karzinome auch bei jugendlichen Individuen beobachten. Derartige Einwendungen können jedoch nicht geltend gemacht werden, wenn wir die mechanische Erklärung, die Thiersch gewählt hat, durch eine chemische ersetzen. In der Tat lehren zahlreiche Erfahrungen, daß die Erscheinungen der Zellhyperplasie von dem Chemismus des Stoffwechsels abhängig sind, der im menschlichen oder tierischen Organismus herrscht. Zum Beispiel sistieren die hyperplastischen Erscheinungen, welche die Pubertät der männlichen Menschen begleiten, wenn die Testikel exstirpiert werden. Dagegen hat der Zoologe Lauterborn[2]) für die Cerviden nachgewiesen, daß sie nach Exstirpation der Testikel an hemmungslosen Wucherungen erkranken, die im Gebiete der Geweihanlage auftreten. Während also die Testikel des Menschen Stoffwechselprodukte bilden, die Zellproliferationen hervorrufen, liefern die Testikel der Cerviden Stoffwechselprodukte, die Zellproliferationen hemmen. Viele Erfahrungen weisen darauf hin, daß in gewissem Grade alle Gewebe des Menschen und der Tiere sowohl stimulierende, wie hemmende Stoffwechselprodukte bilden. Wird z. B. durch Inzision, Exzision, Verbrennen oder Erfrieren ein Defekt der epithelialen Hautdecke verursacht, so entwickeln sich an der lädierten Stelle aus den fixen Bindesubstanzzellen der Cutis Granulationen, die in dem Maße verschwinden, wie der Defekt sich mit Epithel bedeckt. Gemäß den Untersuchungen des Botanikers Haberlandt[3]) dürfen wir folgern, daß an der verletzten Stelle Stoffwechselprodukte von Bindesubstanzzellen der Cutis, bzw. von Epithelien der Epidermis: einerseits Bindesubstanzzellen, andererseits Epithelien zu Proliferationen reizen. Die Rückbildung der Granulationen unter der neugebildeten Epitheldecke weist darauf hin, daß die Stoffwechselprodukte der Epidermisepithelien eine auflösende Wirkung gegenüber den Granulationen der Cutis entfalten. Eine ebensolche auflösende Wirkung besitzen offenbar die Stoffwechselprodukte der Bindesubstanzzellen der Cutis gegenüber den Epithelien der Epidermis, denn nur auf diese Weise können wir erklären, daß unter physiologischen Verhältnissen die Epidermis gegen die Cutis scharf begrenzt ist. Aus den gegebenen Darlegungen können wir die Folgerung entnehmen, daß die Disposition zu pathologischen Zellhyperplasien auf dem Chemismus der Gewebe beruht. Der hyperplastische Prozeß, welcher der Tumorgenese zugrunde liegt, gewinnt dadurch besonderen Charakter, daß er von einer einzelnen Zelle, der Tumormutterzelle, seinen Ursprung nimmt. — Wie ich wiederholt erörtert habe, ist die blastomatöse Reizung als parthenogenetische Ent-

1) Thiersch, Ueber den Epithelialkrebs. Leipzig 1865.
2) Ztschr. t. Krebsforsch. Bd. 16. 1915.
3) Sitz.-Ber. d. Preuß. Akad. d. Wiss. 1913—1921.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wicklungserregung fixer Gewebselemente zu definieren, weil sie in Abwesenheit des Reizes, der sie ausgelöst hat, fortwirkt. Diese Definition ist sowohl durch die Untersuchungen Blochs[1]) bestätigt worden, die das experimentelle Teerkarzinom der Maus betreffen, wie durch die Untersuchungen Fibigers[2]), die sich auf das experimentelle Helminthenkarzinom der Ratten beziehen; denn in den Versuchen Blochs entstanden die metastatischen Karzinome, obgleich sie mit dem Teer, der die primären Karzinome veranlaßt hatte, in keine Berührung getreten waren. Und in den Versuchen Fibigers entwickelten sich die metastatischen Karzinome, obgleich sie frei von den Helminthen gefunden wurden, welche die Ursache der primären Karzinome gewesen waren.

Lubarsch hat in seiner Publikation „Pathologische Anatomie und Krebsforschung" (Wiesbaden 1902. S. 50) das Resultat seiner kritischen Betrachtungen formuliert, wie folgt: „Für den Fall des einwandfreien Nachweises von Krebserregern müßte anderen Momenten, wie chronischen Reizen, dem Vorhandensein embryonal oder postembryonal verlagerter Zellen eine mindestens ebenso große ätiologische Bedeutung, wie den Krebserregern, beigemessen werden."

Prüfen wir diese Postulate an den schließlichen Ergebnissen der Tumorforschung!

Ad 1. Die Erreger chronischer Entzündungen sind identisch mit den Krebserregern. Der Gegensatz zwischen entzündlicher und blastomatöser Reizung beruht daher nicht auf Verschiedenheiten der Aetiologie, sondern auf Verschiedenheiten der biologischen Reaktion.

Ad 2. Versprengte Keime und ähnliche histologische Abnormitäten sind erfahrungsgemäß in hohem Grade disponiert, gegen parasitäre und nicht parasitäre, blastomatöse Reize mit Tumorbildung zu reagieren. Unter den nicht parasitären, blastomatösen Reizen sind die Stoffwechselprodukte des Tumorträgers besonders zu nennen. In diesem Zusammenhange ist daran zu erinnern, daß das Xanthoma diabeticum nach Heilung oder Unterdrückung des Diabetes schwindet. Auch muß erwähnt werden, daß das Melanosarkom der Schimmelpferde eine fast regelmäßige Alterserscheinung dieser Tiere darstellt. Nach einer Statistik von v. Dorssen[3]), die sich auf 234 Schimmel der Amsterdamer Pferdebahn bezieht, waren mit Melanosarkom behaftet:

von	17	Schimmeln	im	Alter	von	6 Jahren	keiner	
„	45	„	„	„	„	6—8 „	5 = 11	Proz.
„	52	„	„	„	„	8—10 „	19 = 36	„
„	60	„	„	„	„	10—12 „	37 = 61½	„
„	38	„	„	„	„	12—14 „	27 = 71	„
„	7	„	„	„	„	14—15 „	5 = 71½	„
„	15	„	„	„	über	15 „	12 = 80	„

Demgegenüber konnte der Veterinärpathologe Schindelka[4]) unter mehr als 16000 Pferden — Patienten der Wiener tierärztlichen Klinik —, die keine Schimmelpferde waren, nur 8 Fälle von Melanosarkom konstatieren. Es ist also auch für die Genese des Melanosarkoms die individuelle Disposition von entscheidender Bedeutung.

---

1) Schweiz. med. Wochenschr. 1921. Nr. 45.
2) Ztschr. f. Krebsforsch. Bd. 13. 1913.
3) Zitiert nach Kitt, Allgem. Pathologie für Tierärzte. 5. Aufl. 1921. S. 498.
4) Schindelka, Handb. d. tierärztl. Chir. Bd. 6. 1908. S. 423.

Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die „grünen Kokken".

Beitrag zur Bakteriologie der Mundhöhle.

[Aus der Parasitologischen und Vergleichend-pathologischen Abteilung des Pathologischen Institutes der Universität Berlin (Direktor: Geheimrat O. Lubarsch).]

Von Dr. **K. Yamaguti** (Formosa [Japan].)

Die Frage der Beziehungen der Mundhöhlenflora einmal zu pneumonischen Erkrankungen und dann zu allgemein-septischen Zuständen ist trotz ihrer großen praktischen und allgemeinen Bedeutung zwar schon oft bearbeitet, aber noch niemals zur bindenden Entscheidung geführt worden. Das hat seinen Grund zum Teil darin, daß die bakteriologischen Kriterien im allgemeinen nicht ausreichten, um die Identifizierung eines gefundenen Keimes als Krankheitserreger durchzuführen. Lange Zeit als gültig angenommene Tatsachen, wie die Bedeutung der fusospirillären Symbiose für die Pathogenese der Plaut-Vincentschen Angina, werden heute wieder angezweifelt (Knorr); über die ursächliche Bedeutung der Zahnerkrankungen zu septischen Allgemeinzuständen herrscht heute noch völlige Unklarheit, wie z. B. aus dem Bericht von Loos deutlich hervorgeht. Loos sagt wörtlich: „Schließlich fehlt noch der strenge Nachweis, daß die Erreger der als septisch betrachteten Erkrankungen mit denen in den dentalen Herden identisch sind" (Klin. Wochenschr. 1922), und warnt im Anschluß an diese Feststellungen davor, aus der unbewiesenen Annahme zu weitgehende Schlüsse zu ziehen, wie es in neuer Zeit die amerikanische Zahnheilkunde tut. Was nun im besonderen die Kokken angeht, die in der ganzen Frage zweifellos im Mittelpunkt unseres Interesses stehen, so hat sich gerade in den letzten Jahren vor allem die amerikanische Forschung ganz eingehend damit beschäftigt, einmal die normale, und dann die erkrankte Mundhöhle genau auf ihren Keimgehalt zu untersuchen, und von der Norm abweichende Befunde mit Krankheitszuständen in Verbindung zu bringen. Hier sind vor allem die ausgedehnten Untersuchungen der amerikanischen Enquête 1905 zu nennen, die der Erforschung der Pneumonie gewidmet, die Klarlegung der Mundhöhlenverhältnisse sich mit zur wichtigsten Aufgabe gemacht hatte (Journ. of Exp. Med. VII). Methodische Untersuchungen liegen aus den letzten Jahren vor von Bloomfield, Meyer, Havens und Taylor, Pilot und Pealman, Avery, Chickering, Cole und Dochez u. a. m. Es handelt sich hier im wesentlichen darum, 1. das Vorkommen hämolytischer Streptokokken, und 2. das echter Pneumokokken festzustellen und eine Einteilung der letzteren nach immunbiologischen Prinzipien durchzuführen. Dazu wurde in großen Reihenuntersuchungen gesunder, kranker und in der Umgebung Kranker befindlicher Personen vor allem das Vorkommen der einzelnen Pneumokokkentypen studiert, wobei die Einteilung nach den Neufeldschen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Prinzipien in amerikanischem Muster vorgenommen wurde. So wichtig die Ergebnisse im einzelnen auch sein mögen, die für die pneumonischen Erkrankungen wichtigste Grundfrage der ursächlichen Beziehungen zwischen Erkrankung und Auftreten der betreffenden Keime in der Mundhöhle, konnten nicht beantwortet werden, nämlich, ob das Auftreten der Keime in der Mundhöhle das Primäre oder das Sekundäre sei, mit anderen Worten, ob mit einer Infektion der Lungen auf diesem Wege gerechnet werden müßte, oder ob nur der Lungenkeim sich sekundär im Rachen ansiedelte. Ebensowenig ist die Frage geklärt, welche Bedingungen der Pneumococcus in der Rachenhöhle vorfinden muß, um sich dort ansiedeln zu können — da auf jeden Fall festgestellt ist, daß die gesunde Mundhöhle nicht geeignet erscheint, ihm längeren Aufenthalt zu gewähren. Ganz unentschieden bleibt die Frage, die uns die wichtigste zu sein scheint, ob eventuell ein Uebergang saprophytischer Keime in parasitische anzunehmen ist, und welches die Voraussetzungen hierfür sind. Hierfür aber fehlen uns heute noch die wesentlichsten Grundlagen, da die Methodik der Trennung der normalen saprophytischen Mundhöhlenbewohner von den krankhaften — parasitischen — keineswegs einwandfrei ausgebildet und durchführbar ist. Auf diese Fragen soll an anderer Stelle ausführlicher zurückgekommen werden. Zweck vorliegender Arbeit war es, die so lange vernachlässigten Saprophyten einer genaueren Untersuchung in immunbiologischer Hinsicht zu unterziehen. Uns lag dies um so mehr am Herzen, als ja gerade manche Eigenschaften dieser sogenannten Saprophyten sich mit den Eigenschaften derjenigen Keime deckten, die als Erreger allgemein septischer Erkrankungen, vor allem der Endocarditis lenta, beschrieben worden sind.

Neuerdings hat Seitz[1]) eine Differenzierung der Streptokokken der Mundhöhle durchzuführen versucht (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. H. 1/3). Er unterscheidet den Bewohner der normalen Mundhöhle als den H-Typus des Strept. lacticus von dem Z-Typus aus der Tiefe aseptisch aufgesprengter, an der Oberfläche desinfizierter, kariöser Zähne. Ersterer ist ein dicker, zugespitzter Diplococcus, „der im primären Ausstrich keine oder nur ganz kurze Ketten bildet", sehr gramfest ist, die Methämoglobinplatte (Seitz) angreift, während der andere Typus schlanke, zugespitzte Diplokokken aufweist, bereits im primären Ausstrich reichere Kettenbildung zeigt und die Methämoglobinplatte nicht angreift. Beide unterscheiden sich ferner durch den Grad ihrer Empfindlichkeit gegenüber Gallezusatz, ihr Verhalten im Leukinversuch; der Tierversuch gab für die Differenzierung beider Arten keine eindeutigen Resultate. Durch Komplementbindung ließ sich eine Zusammengehörigkeit der als artverwandt angenommenen Stämme nachweisen.

Die Publikation von Seitz läßt leider die Mitteilung vermissen, durch welche Methode die 50 der Untersuchung zugrunde liegenden Stämme gewonnen worden sind, d. h. nach welchen Grundsätzen eine Auswahl in der Vielheit der sich völlig gleichenden Kolonien einer Spatelplatte getroffen worden ist. Unseres Erachtens ist nämlich die einzige Methode, die uns dem erwünschten Ziel, nämlich der Kenntnis der gesamten Keime einer Mundhöhle, näher führt, die, nach Ausspatelung

1) Vorliegende Arbeit war schon vor Kenntnis der Seitzschen Publikation im wesentlichen abgeschlossen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des Mundhöhlenschleimes auf einer Reihe von Blutplatten eine möglichst große Anzahl der einzelnen Kolonien getrennt weiterzuführen und für sich zu untersuchen. Man bekommt auf diese Weise wenigstens einen annähernden Begriff von der Mannigfaltigkeit dieser Keime. Unentbehrlich ist dieser Weg nicht nur, wenn es sich darum handelt, die nicht tierpathogenen „grünen" Kokken zu studieren, sondern auch dann, wenn man beabsichtigt, sich über das Vorkommen der Pneumokokken in der normalen und kranken Mundhöhle zu orientieren. Die alleinige Betrachtung der Platte läßt uns in beiden Fällen leider völlig im Stich, da es auch dem Kenner nicht gelingt, in der Fülle der grün wachsenden Kolonien der Blutplatte einen saprophytischen und parasitischen Keim, einen sogenannten „grünen" Streptococcus und einen Pneumococcus zu unterscheiden. Zur Erkennung der Pneumokokken ist noch der andere Weg, der des Tierversuches, gangbar, doch gibt diese Methode weder einen Aufschluß über die Verteilungsverhältnisse, noch kommen wir durch sie in den Besitz des originalen Pneumococcus, d. h. eines Keimes, der noch nicht die Tierpassage durchgemacht hat. Ich werde auf den Vergleichswert beider Methoden und des Tierversuches im 2. Teil meiner Arbeit noch zurückkommen.

Die Frage nach der antigenen Natur der rein saprophytischen Keime hat naturgemäß stets weniger Interesse gefunden als die der echten Parasiten. Beim Studium einer Erregergruppe jedoch, bei der im allgemeinen die Möglichkeit des Ueberganges des einen Typus in den anderen angenommen wird (Autoinfektion), bei denen auch der saprophytäre und der infektionstüchtige Keim in vielen äußeren Merkmalen übereinstimmen, so z. B. in dem Wachstum auf der Schottmüllerschen Blutplatte, schien es sich schon der Mühe zu verlohnen, wenigstens in Stichproben den immunbiologischen Charakter der gemeinhin als saprophytisch angesprochenen Gruppe zu untersuchen. Es muß vorweg genommen werden, daß es aussichtslos erschien, im Rahmen einer Untersuchung mehr als eine allgemeine Orientierung zu gewinnen, und mehr ist auch von mir nicht erreicht worden.

Für die Verhältnisse der Mundhöhle war die einfache Fragestellung folgende: Stellt der gemeine Bewohner menschlicher Mundhöhlen, der auf der Blutplatte grün wachsende Kettencoccus, eine antigene Einheitlichkeit 1) innerhalb einer Mundhöhle, 2) bei verschiedenen Individuen dar, bzw. läßt sich eine begrenzte Anzahl einheitlicher Typen finden, und wie sind seine Beziehungen zu vorläufig wahllos herausgegriffenen morphologisch und kulturell identischen Keimen anderer Herkunft, zu den grünen Keimen der Milch, des Stuhls, der Conjunctiva usw.? Die weitere Frage, die sich daran anschließt, ist die: Wie verhalten sich diese „Saprophyten" zu den bei Erkrankungen des Menschen auftretenden Keimen derselben Gruppe, zu den Pneumokokken, dem Strept. viridans (Schottmüller), sowie zu den so häufig bei den verschiedensten Sektionen als Zufallsbefund aus den inneren Organen gezüchteten „grünen" Streptokokken?

Ich bin im weiteren so vorgegangen, daß ich die isoliert weitergeführten Stämme einer Mundhöhle (im Durchschnitt etwa 20) auf flüssigen Nährboden gebracht habe, um mich über die Wuchsform des einzelnen Stammes zu unterrichten, um dann gleichzeitig vom flüssigen Nährboden aus den Virulenzversuch an der weißen Maus vornehmen zu können. Der Versuch, die Wuchsform der Bakterien dieser Gruppe zum Einteilungsprinzip zu machen, ist oft und erfolglos gemacht worden. Zwar

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

findet sich unter gleichbleibenden Kulturbedingungen eine gewisse Konstanz der Wuchsform des einzelnen Stammes in flüssigen Medien — allerdings nur innerhalb nicht sehr weiter zeitlicher Grenzen. Wenigstens neigt der ursprünglich in Diploform wachsende Saprophyt immer mehr dazu, in eine Wachsform mit kürzeren und auch mit längeren Ketten überzugehen. Der Saprophyt zeigt in dieser Richtung auch eine recht erhebliche Beeinflußbarkeit durch die Art des Nährmediums (Eiweißgehalt), die dem parasitischen Keim, also dem Pneumococcus, abgeht. Die Abänderung der Wuchsform geht unter gewöhnlichen Bedingungen stets in Richtung von der Diploform zur Kettenform und nie umgekehrt. L. Schereschewski hat bereits vor längerer Zeit über ähnliche Versuche berichtet.

Sieht man sich nebeneinander die aus einer Mundhöhle isolierten Keime an, so findet man stets die verschiedensten Wuchsformen vertreten; im allgemeinen überwiegen bedeutend die in langen Ketten mit krümeligem Bodensatz wachsenden, die Bouillon klar lassenden Formen gegenüber den mit diffuser Trübung wachsenden Diplokokken (s. Tab. I).

Tabelle I.

Aus Sputum von Spatelplatte isolierte Stämme (Dr. Yamaguti). Wuchsform in Aszitesbouillon.

Stamm	Makroskopisch	Mikroskopisch
1	diffuse Trübung	zumeist Diplokokken, vereinzelte kurze Ketten
2	klar mit Bodensatz	lange Ketten
3	dgl.	„ „
4	„	„ „
5	diffuse Trübung	zumeist Diplokokken, vereinzelte kurze Ketten
6	klar mit Bodensatz	lange Ketten
7	dgl.	„ „
8	„	„ „
9	„	„ „
10	„	„ „
11	„	„ „
12	diffuse Trübung	zumeist Diplokokken
13	klar mit Bodensatz	lange Ketten
14	dgl.	„ „
15	„	„ „
16	diffuse Trübung	zumeist Diplokokken
17	klar mit Bodensatz	lange Ketten
18	dgl.	„ „
19	„	„ „
20	diffuse Trübung	zumeist Diplokokken
21	klar mit Bodensatz	lange Ketten
22	diffuse Trübung	Diplokokken und kurze Ketten
23	klar mit Bodensatz	lange Ketten
24	dgl.	„ „
25	diffuse Trübung	Diplokokken, kurze und längere Ketten

Und doch wäre es verfehlt, darauf eine Einteilung aufzubauen, etwa die langkettigen den Streptokokken, die Diploform den Pneumokokken zuzurechnen. Gerade die prozentual viel selteneren Diplokokken haben uns im Tierversuch stets enttäuscht, d. h. es gelang nie auf diese Weise den Original-Pneumococcus zu finden.

Ich bezeichne im folgenden mit „saprophytisch“ den vorzugsweise in Ketten, seltener in Diploform, wachsenden, Galle-unlöslichen, Optochin-unempfindlichen, Inulin nicht spaltenden, Mäuse-apathogenen „grünen“

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kokkus, dem als „parasitischer" Keim der „echte" Pneumococcus als Galle-löslicher, Optochin-empfindlicher, Inulin-spaltender, Mäusepathogener Keim gegenübersteht. Auf die Zwischenstellung der aus menschlichen Erkrankungen, z. B. Endokarditis gezüchteten „grünen" Keime, der sogenannten Lenta-Keime, soll an dieser Stelle nicht eingegangen werden, ebensowenig auf die sogenannten atypischen Pneumokokken, die in manchen Eigenschaften den Pneumokokken, in anderen wieder den Saprophyten ähneln. Zur Orientierung hierüber sei auf die Arbeit von E. K. Wolff, „Untersuchungen über die Beziehungen der Strepto-Pneumokokken zueinander und zum Wirtsorganismus" hingewiesen (Virchows Arch. 1923).

Von den verschiedenen biologischen Methoden zum Studium der antigenen Eigenschaften der Erreger erwiesen sich mehrere als nicht oder nur wenig brauchbar. Das gilt vor allem für die sonst so bequeme Methode der Agglutination. Da es sich, wie bereits angeführt, zumeist um geballt am Boden des flüssigen Nährbodens wachsende Keime handelt, die schon im Kontrollröhrchen mit Kochsalz das Phänomen der Agglutination (Spontanagglutination) aufweisen, und sich diese bisher auf keine Weise zuverlässig überwinden ließ[1]), mußte von dieser Methode, die sich ja bei der Gruppe der Pneumokokken so gut bewährt hatte, Abstand genommen werden. Machte man den Versuch mit von festen Nährböden abgeschwemmten Keimen, so war das Ergebnis, wenn möglich, noch schlechter; die Agarkulturen klumpten so grob, daß die Vornahme einer Agglutination völlig unmöglich war. — Die Anaphylaxie-Probe kann wohl in einzelnen Fällen mit gutem Erfolg durchgeführt werden, sowohl die aktive, als auch die passive, doch ist sie für jeden Reihenversuch ungeeignet und kostspielig.

Die Präzipitation setzt das Vorhandensein klarer, wirksamer Extrakte voraus. Deren Herstellung hat ihre Schwierigkeiten, da die Keime auf gewöhnlichem Agar nicht gut wachsen, auch auf Serum — bzw. Aszites-Agar — nicht allzu üppig, und man auf jeden Fall die Vorsicht anwenden muß, die zur Extraktbereitung benutzten Keime auf Nährböden zu züchten, die ein anderes Eiweiß als Zusatz enthalten als die Nährböden, auf denen die zur Immunisierung verwandten Keime gewachsen waren. Das hat seine Unbequemlichkeiten. Die Beschaffung größerer Mengen derartiger Extrakte von festen Nährböden ist kostspielig, wenn ihre Zahl so groß ist wie in unseren Untersuchungen; außerdem läuft man immer noch Gefahr, zur Erreichung der völligen Klarheit so weit verdünnen zu müssen, daß die Wirksamkeit leidet. Denselben Schwierigkeiten der Extraktbereitung begegnet man bei Verwendung der Komplementbindung. Hier kommt noch der Umstand erschwerend hinzu, daß sich beim Abschwemmen vom festen Nährboden Bestandteile desselben beimengen, die selbst hemmend wirken, und die selbst sehr stark verdünnt werden müssen, damit die Eigenhemmung überwunden wird. Es erschien mir deswegen erstrebenswert, die Abschwemmethode zu verlassen und ausschließlich mit gewachsenen, flüssigen Kulturen als Antigenen zu arbeiten. Hierbei hat sich mir ganz besonders ein von nativem Eiweiß freier Standard-Nährboden (von Kuczynski und Ferner) bewährt, der wegen seiner Klarheit, Antigenfreiheit und Freiheit von antikomplementären Stoffen sich vorzüglich eignete. Die Antigenbereitung gestaltet sich denkbar einfach: die 24-Std.-Kultur wird mehrere Male hintereinander gefroren und schnell wieder aufgetaut, dann etwa $^1/_2$ Std. im Schüttelapparat geschüttelt und zentrifugiert. Die überstehende klare Flüssigkeit ist das gebrauchsfertige Antigen, das sich zumeist als unverdünnt brauchbar erweist, bzw. die Gebrauchsdosis im Antigenversuch mühelos ermitteln läßt. Man kann auf diese Weise schnell in den Besitz großer Reihen verschiedener Antigene (auf gleicher Grundlage) kommen, was entschieden von Vorteil ist, wenn derartige Reihenversuche vorgenommen werden. Bei der Benutzung eiweißhaltiger Nährböden, wie sie z. B. bei der Diagnostik des Bangschen Bazillus üblich ist (s. Klimmer, Ergebn. Bakt. Bd. 1), geht man einesteils des erwähnten Vorteils verlustig; besonders wird man auch bei Austitrierung der unterbindenden Dosis auf höhere Verdünnungen kommen, was für die Exaktheit der Technik nicht in jedem Falle belanglos ist.

Voraussetzung für die Eignung der angeführten flüssigen Nährböden für den Zweck der Komplementbindung ist natürlich, daß der antigene Charakter des Keimes

1) Auch die von Bliss (Journ. Exp. Med. Bd. 36) neuerdings wieder empfohlene, von Dochez, Avery und Lancefield (Journ. Exp. Med. Bd. 30) angegebene Methode — besonders sorgfältige Beachtung der Reaktion und Zusammensetzung der Nährböden und der Aufschwemmungsflüssigkeit — hat sich als nicht hinreichend und zuverlässig und jedenfalls als recht umständlich erwiesen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auf ihm nicht verändert wird. Dies gewährleisten die erwähnten Standardnährböden, wie sich in ausgedehnten und über längere Zeit erstreckenden Untersuchungen an typenfesten Keimen, also z. B. Pneumokokken, hat feststellen lassen. Man muß ja bei solchen Versuchen immer mit der Möglichkeit einer Aenderung des antigenen Aufbaues rechnen. Für die Agglutinogene kennen wir ja derartige Vorkommnisse sehr genau durch die Untersuchungen von Braun und seiner Mitarbeiter, so die Aenderung des Proteus auf den Karbolnährböden und die Beeinflussung der Paratyphus- und Typhusstämme auf den synthetischen sogenannten Minimalnährböden, die besonders von Cahn-Bronner studiert sind (Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 33. 1921). Auch liegen schon die bekannten älteren Untersuchungen von Bordet über den Keuchhustenbazillus vor, die die Aenderung des agglutinogenen Aufbaues bei Aenderung der Nährbodenbedingungen zum Gegenstand haben. Im wesentlichen handelt es sich bei diesen Beispielen um den Verlust einer von mehreren Antigenkomponenten, beim Proteus wahrscheinlich an den Hüllschicht-Geißelapparat gebunden. Die Cahn-Bronnerschen Untersuchungen am Paratyphus führten überdies nur zu dem Ergebnis, daß auch auf den Minimalnährböden keine qualitative Aenderung, sondern höchstens eine quantitative, also eine Verschiebung der Mengenverhältnisse der einzelnen Bestandteile des Bakterienleibes eintrat. Beim Bordetschen Versuch änderte sich zwar die Agglutinabilität und agglutinogene Wirksamkeit, aber die Komplementbindung war keiner Veränderung unterworfen. So liegt jeder Fall besonders — nur muß man bei Benutzung neuartiger Nährmedien auch solche Möglichkeiten berücksichtigen. Im übrigen sei auf die diesbezügliche Publikation von Kuczynski und Ferner (Klin. Wochenschr. 1923) verwiesen.

Bei der Ausführung der Komplementbindung gingen wir in der gewohnten Weise vor. Im ersten Vorversuch wurde der hämolytische Ambozeptor eingestellt, im zweiten Vorversuch die verschiedenen Antigene und Sera auf Eigenhemmung untersucht. Im Hauptversuch wurde der Extrakt in möglichst hoher Einstellung verwandt und die Serummenge variiert.

Die Komplementbindungsreaktion stellt natürlich auch in der von uns angewandten Technik keine ideale Methode dar. Immer wieder wird man auf Mißerfolge stoßen. Besonders störend erwies sich mir mitunter die starke Eigenhemmung der Immunsera, die zur Ausschaltung des betreffenden Serums Veranlassung gab, wenn in gewissem Umfange bei steigender Verdünnung Steigerung der Hemmung eintrat. Das Serum ist dann so labil, daß es auch in der einen Stufe, in der es vielleicht keine Eigenhemmung zeigt, mit allen Extrakten hemmt.

Wir haben im ganzen 52 Stämme isoliert weitergeführt und zu Extrakten verarbeitet. Dieselben verteilen sich auf 4 verschiedene gesunde Personen. So viel Stämme haben uns wenigstens noch zur Verfügung gestanden, als die Methodik einwandfrei ausgearbeitet war. Anfangs waren es etwas mehr, wie erwähnt etwa 20 von jeder Person, die zwar sämtlich auf Wuchsform und Tierpathogenität untersucht wurden, aber bei der Ausführung der Komplementbindung zum Teil bereits in Verlust geraten waren. — Zum Vergleich wurden ferner noch die Extrakte von je 6 aus Kuhmilch und aus Säuglingsmilch gezüchteten „grünen“ Kokkenstämmen hergestellt.

Tabelle 2 gibt eine Uebersicht über die sämtlichen 52 Stämme, geordnet nach ihrer Herkunft.

Tabelle 2. Herkunft der Stämme.

Stamm	1—7	Mundhöhle Dr.	M. L.
„	8	„ „	M. K.
„	9—20	„ „	W.
„	21—30	„ „	Yamaguti
„	31—52	„ „	A.

Im ganzen wurden mit 10 verschiedenen Stämmen Immunsera hergestellt, wovon 2 sich für die Untersuchung als brauchbar erwiesen. Die Auswahl wurde nach dem Gesichtspunkte getroffen, daß Keime verschiedener Herkunft, zum Teil auch verschiedener Wuchsform, ausgewählt wurden, oder es wurden Seren von solchen Stämmen hergestellt, die sich im vorangegangenen Versuche als scheinbar identisch erwiesen hatten.

Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Die zur Serumherstellung benutzten Stämme sind:

Stamm 1, 8, 10, 16, 21, 22, 24, 28, 31, 33.

Dazu kommt ein Pneumokokkenserum von Typus 1.

Tab. 3 (S. 352/353) gibt eine Uebersicht über das Ergebnis der Komplementbindungsversuche mit allen brauchbaren Seren und Extrakten. Die Auswertung der einzelnen Sera wird in Tab. 4 (S. 352) gezeigt werden. Hier soll nur ohne Einzelheiten ein Begriff von der Mannigfaltigkeit des Aufbaues der verschiedenen Stämme einerseits und der Gruppenzusammengehörigkeit andererseits gegeben werden. Es bezieht sich dies Ergebnis nur auf eine Serumverdünnung; damit werden Uebereinstimmungen vorgetäuscht, die tatsächlich nicht vorhanden sind, wie einerseits die Austitrierung, andererseits der Kreuzversuch, wie aus der Tabelle ersichtlich, zeigt. Am Beispiel des Serums 10 sehen wir annähernd gleiche Hemmung mit den Extrakten 10, 14, 16, 20, 24, 51. Serum 16 hingegen gibt zwar mit dem größten Teil dieser Extrakte Komplementbindung, nur nicht mit Extrakt 14, auch nicht mit Extrakt 24, aber daher mit Extrakt 9, 17, 32 und 33 stark, 29, 31 und 37 schwächer.

Die Ergebnisse sind übrigens alle, wie ausdrücklich bemerkt sei, durch mehrfache Wiederholungen, auch mit des öfteren neu hergestellten Extrakten[1]) nachgeprüft und bestätigt worden. Nährböden und Art der Herstellung waren stets die gleichen. Differenzen im Wachstum der einzelnen Keime waren so weit wie möglich durch entsprechende Verdünnung ausgeglichen. Der Extrakt wurde nur verwandt, wenn er absolut klar war. Stellte sich Trübung ein, wurde vom selben Stamm ein neuer Extrakt hergestellt.

Serum 21 wiederum gibt zwar mit Extrakt 10 stärkste Hemmung, hingegen hemmt der Extrakt 21 mit Serum 10 nicht.

Tabelle 4 gibt das Ergebnis der Austitrierung der Immunsera 16 und 21 mit einer Reihe positiver und negativer Stämme, und zwar wurden Serumverdünnungen von 1:100 bis 1:800 gewählt. Bei Immunserum 16 ist bei Verdünnung 1:400 die Komplementbindung nur noch mit dem homologen Stamme positiv, mit diesem sehr stark, mit drei anderen schwach, während die Verdünnung 1:100 bei allen 4 Stämmen gleich starke Hemmung zeigte.

Stämme 20 und 33, die bei der Verdünnung 1:5 (s. Tab. 3) stark gehemmt hatten, hemmen bei 1:100 nur schwach, Stamm 32 ist bei dieser Verdünnung schon völlig ausgefallen.

Wir sehen also, daß die Austitrierung des Serums deutliche Unterschiede aufdeckt. Bei Immunserum 21 liegen die Verhältnisse etwas anders insofern, als zum mindesten 2 Stämme, 10 und 20, noch in sehr hoher Verdünnung, 1:400, stark hemmen, allerdings bei 1:800 wesentlich hinter dem homologen Extrakt an Wirksamkeit zurückbleiben. Daß ein etwaiger Schluß auf Identität, z. B. vom Stamme 10 und 21, dennoch unberechtigt ist, ergibt sich ohne weiteres aus dem Kreuzversuch mit Serum 10, das, wie schon erwähnt, keine komplementbindenden Antikörper gegen Stamm 21 aufweist. Wir haben es hier vielleicht — ähnlich wie bei der Agglutination bekannt — mit einem Verhältnis zweier Keime zueinander zu tun, derart, daß der eine, der „Ueberwertige", den anderen, den „Unterwertigen", in seiner antigenen Zusammensetzung überdeckt, ohne von ihm gedeckt zu werden. Hier sei nur an das agglutinatorische Verhalten der Pneumokokken des Typus 2 erinnert,

1) Allerdings innerhalb weniger Wochen, siehe hierüber später.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ta

Komplementbindungsversuch mit 25 Mundhöhlenstämmen

Antigen Nr.	1	8	9	10	12	14	16	17	18	19	20
Imm.-Ser. 10	—	—	—	+++	—	++	++	—	—	—	+++
„ 16	—	—	++++	+++	—	—	++++	+++	++	—	+++
„ 21	—	—	—	++++	—	++++	—	—	++	—	++++
„ 22	—	—	++	+++	—	+++	—	—	—	—	++++
„ 28	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 31	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pneumokokken Imm.-Ser. Typ. I	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Antigenmenge nach Austitrierung 0,15—0,2 (bei Ansetzen in $^1/_4$-Dosen) Immunserum 0,2, 1 : 5.

Tabelle 4.

Austitrierung der Immun.-Ser. 16 und 21.

		St. 1	8	9	10	16	17	19	20	32	33	37
Imm.-Ser. 16	1 : 100	+	—	++	++	++++	+++	—	++	—	+	+
	1 : 200	—	—	++	++	++++	++	—	±	—	—	—
	1 : 400	—	—	+	+	+++	+	—	—	—	—	—
	1 : 800	—	—	—	—	—?	—	—	—	—	—	—

		St. 1	8	9	10	14	19	20	21	22		
Imm.-Ser. 21	1 : 100	—	—	—	++++	+++	—	++++	++++	—		
	1 : 200	—	—	—	++++	+++	—	++++	++++	—		
	1 : 400	—	—	—	+++	+	—	+++	++++	—		
	1 : 80	—	—	—	++	±	—	++(+)	++++	—		

dessen „echte“ Repräsentanten im Agglutinationsversuch wirksame Sera gegen alle Angehörigen der Gruppe erzeugen, während die mit den Repräsentanten der Untergruppe (IIa, b, x) hergestellten Sera die echten Typen nicht zu agglutinieren vermögen.

So viel geht jedenfalls aus unseren Untersuchungen hervor, daß die von Seitz durchgeführte Einteilung der „grünen Keime“ der Mundhöhle in Z- und H-Formen nicht ausreichend ist. Die Komplementbindung hat nach der von uns geübten Methodik eine Vielheit von Typen aufgedeckt, deren Zahl nach den vorliegenden Versuchen naturgemäß nicht festgelegt werden kann. Zudem ließ sich immer von neuem die Beobachtung machen, daß alle von uns untersuchten Saprophyten zwar eine Zeitlang in der künstlichen Kultur ihren antigenen Charakter unverändert beibehalten, dann aber plötzlich bei einer erneut vorgenommenen Extraktherstellung und Komplementbindung mit den heterologen, früher positiv reagierenden Seren, mitunter aber auch mit dem homologen Serum, negativ reagieren. Damit steht der saprophytische Keim im scharfen Gegensatz zu dem parasitischen. Während z. B. der echte Pneumococcus — gleich, welcher Typus — bei künstlicher Kultur auf den gewöhnlichen Nährböden zum mindesten jahrelang seinen antigenen Charakter, geprüft an der Komplementbindung und der Agglutination, nicht ändert, wie übereinstimmend von allen Untersuchern (mit Ausnahme von Rosenow) angegeben wird, sich also absolut konstant und invariabel erweist, neigt der saprophytische Keim zur Variation; während das Stammindividuum des echten Parasiten aus

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

belle 3.
und 7 Imm.-Ser. (komb. aus einzelnen Versuchen mit je 1—2 Seris).

21	22	24	28	29	31	32	33	34	37	40	41	51	52
—	—	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++	—
—	±	—	—	++	++	++++	+++	—	+	—	—	+++	—
++++	++++	—	—	++	+	—	—	—	—	—	—	+	—
++++	++++	+++	—	±	+	++	—	—	—	+++	—	++	—
—	—	++++	++++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	±	+	—	++++	—	+	—	—	—	—	—	—
—	—	++	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Ambozeptor, Kompl. nach Austitrierung.
Kontrollen N. S., Antigenkontrolle.

einheitlichen Bakterienindividuen zusammengesetzt ist, wie sich ohne weiteres durch Ausspatelung und isolierte Weiterführung erweisen läßt, findet sich oft genug bei Saprophyten das entgegengesetzte Verhalten; d. h. ein derartiges Verfahren führt zu differenten Isolierungsstämmen. Für die Invariabilität und Einheitlichkeit des parasitischen Keimes haben wir eine gewisse Erklärung in der Vorstellung, daß er, unter einem ganz bestimmten Zwange des Wirtsorganismus entstanden, der ganz bestimmten Abwehrleistung desselben seine einheitliche Ausprägung verdankt (s. E. K. Wolff, l. c.) Beim saprophytischen Keime fehlt diese zwangsmäßige Einstellung und damit auch der einheitliche Typus.

Auf die ähnlichen Verhältnisse hat van Loghem für die Typhus-Coli-Gruppe mit Nachdruck hingewiesen. In seiner Arbeit „Variabilität und Parasitismus" (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. H. 6) sagt er wörtlich: „Die Variabilität der Bakterien könnte eine Funktion sein. Das Vermögen der Variabilität könnte zusammenhängen mit der Eigenschaft, sich möglichen Aenderungen des Milieus anzupassen. — Von diesem Gesichtspunkte aus ist es bemerkenswert, daß der Typhusbazillus der Eigenschaft des Rezeptorenapparates ganz oder fast ganz entbehrt, daß dieselbe beim Paratyphusbazillus deutlich ausgeprägt ist, und daß sie dem Coli-Bazillus in unendlich stärkerem Maße zukommt, und wir fragen, ob die Variabilität — im Sinne von Aenderungsfähigkeit — vielleicht eine Eigenschaft ist, welche zum saprophytischen Charakter gehört und bei dem parasitischen verloren geht. Wir wissen ja, daß im allgemeinen mit der Entwicklung der parasitären Funktionen gewisse wichtige Eigenschaften der freilebenden Formen verschwinden können. Nach dieser Auffassung würde die starke Variabilität des Bacterium coli zusammenhängen mit seinem saprophytären und kommensalen Charakter."

Was die Bewertung der Komplementbindung in diesem Zusammenhange anbelangt, so stellt sie, wie die Untersuchungen an Pneumokokken zeigten, eine „feinfühligere" Methode dar als die Agglutination. Man ist in der Lage, mit ihrer Hilfe verwandtschaftliche Beziehungen zwischen Bakterienstämmen unserer Gruppe aufzudecken, die durch die Agglutination verborgen bleiben; sie ist die gruppenspezifische Reaktion im Gegensatz zur typenspezifischen, indem sie alle Pneumokokkentypen umfaßt und — in gewisser Breite — die einzelnen Typen nicht heraushebt. Wir haben danach die Differenzen der einzelnen Saprophyten, wie sie mittels der Komplementbindung aufgedeckt werden, um so größer zu veranschlagen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es wurde dann noch der Versuch gemacht, festzustellen, ob zwischen unseren Mundstreptokokken und solchen gleichen Wachstums aus Stuhl und Milch durch die Komplementbindung aufdeckbare Beziehungen bestünden. Im ganzen wurden 6 grüne Stämme aus einem Säuglingsstuhl und 6 Stämme aus einer Milchprobe untersucht. Das Ergebnis war völlig negativ, und zwar mit sämtlichen geprüften Seren. Ich kann daher wohl auf die Wiedergabe der Tabelle verzichten.

Fassen wir die bisher mitgeteilten Befunde kurz zusammen, so hat sich ergeben, daß, unbeschadet aller morphologischen Uebereinstimmungen der „grünen Streptokokken" der Mundhöhle, weitgehende Differenzen der einzelnen Stämme bestehen, daß sich aber auch identische oder nahe verwandte Stämme auffinden lassen, und zwar nicht nur innerhalb einer Mundhöhle, sondern auch beim Vergleich der Bakterienflora verschiedener Mundhöhlen. Die antigene Struktur — gemessen an der Komplementbindungsmethode — erwies sich bei den untersuchten Keimen als schwankend insofern, als im Laufe der Zeiten oftmals eine völlige Abwandlung zu beobachten war. Wir sahen hierin und in der daraus resultierenden Mannigfaltigkeit der Erscheinungsform ein wichtiges Merkmal des saprophytären Typus im Gegensatz zum parasitischen Typus.

Ein besonderer Fall verlangt noch eine etwas eingehendere Besprechung. In der Tabelle 3 findet sich an letzter Stelle auch das Ergebnis der Komplementbindung der verschiedenen Saprophyten mit dem Pneumokokkenserum Typus I (Kan. 632). Es verhalten sich, wie ersichtlich, mit zwei Ausnahmen sämtliche Stämme diesem Pneumokokkenserum gegenüber negativ; nur Stamm 28 zeigt deutliche, Stamm 24 etwas schwächere positive Reaktion. Dieser Befund war höchst auffallend, wies er doch darauf hin, daß hier bei einem echten Saprophyten, der in sehr langen, verschlungenen Ketten wuchs, völlig Galle-unlöslich, Optochin-unempfindlich war, Inulin nicht spaltete usw., doch irgendwelche Beziehungen zu den echten Pneumokokken bestehen mußten. Die Komplementbindung mußte hier, wenn sie nicht als unspezifisch aufzufassen war, innere Gemeinsamkeiten des Aufbaues offenbaren, deren Erkenntnis mit keiner anderen Methode möglich gewesen wäre.

Es wurde nun noch der Gegenversuch mit dem Immunserum dieses Stammes 28 gemacht.

Tabelle 5.

Komplementbindung mit Immunserum 28 am 21. Nov. 1922.

Stamm	28	24	48 (II)	34 (I)	49	19
I.-S. 28 1:25	++++	++++	++	++	—	—

Stamm 48 = Pneumococcus Typus II
„ 34 = „ „ I
„ 49 = Lentakeim (Viridans)
„ 19 = Mundhöhlenkeim

Aus der Tabelle geht hervor, daß das Immunserum 28 zwar mit dem homologen Stamm 28 und dem sehr nahe verwandten Stamm 24 eine sehr starke Reaktion gibt, daß aber die Reaktion mit den beiden Pneumokokkenstämmen auch noch sehr deutlich ist im Gegensatz zur negativen Reaktion mit dem Stamm 19 und dem Lenta-Stamm.

Die weitere Untersuchung dieses Stammes 28 konnte unsere Annahme stützen. Die Beziehungen zu den Pneumokokken ließen sich

Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

durch eine verhältnismäßig hohe Virulenz gegenüber der weißen Maus zur Evidenz erweisen.

Virulenzversuch vom 1. Nov.:

Maus	I	Stamm	Y 19	0,5	ccm	Asz.-Bouillon	sk.	überlebt
„	II	„	Y 31	0,5	„	„	„	überlebt
„	III	„	Y 28	0,5	„	„	„	3. Nov. schwer krank, getötet; aus Herzblut: Diplokokken.
„	IV	„	Y 40	0,5	„	„	„	überlebt

Aus dem Versuch geht hervor, daß der Stamm Y 28 als einziger von 4 gleichzeitig untersuchten Mundhöhlenstämmen imstande war, die weiße Maus innerhalb 48 Std. septikämisch zu töten. Die Dosierung ist gewiß hier sehr hoch gewählt, aber für jeden „gewöhnlichen" Saprophyten noch zu niedrig, wie wir uns immer wieder überzeugen konnten. Man muß schon bis zu 1 ccm hinaufgehen, um mit einem derartigen Keim ein Tier zu durchseuchen. Man erzielt in diesem Fall auch keine erhebliche Virulenzsteigerung des Keimes; der Keim wird fast unverändert wieder aus dem Tier herausgezüchtet und muß in fast derselben hohen Dosierung zur weiteren Passage verwandt werden. Im Gegensatz dazu war bei dem Stamm 28 bereits in dieser ersten Passage eine Umstellung in dem Sinne erfolgt, daß der echte Saprophyt nunmehr zum echten Parasiten geworden war, daß wir den mit allen Pneumokokkeneigenschaften ausgestatteten Passagestamm 28 erhielten, der sich eigentlich in jeglicher Hinsicht von dem Ausgangsstamm unterschied. Dieser Versuch wurde später noch mehrere Male wiederholt, zweimal mit dem gleichen Erfolg; beim dritten Male versagte er völlig. Die Untersuchung ergab, daß der Keim, getreu seiner saprophyten Erscheinungsform, seinen antigenen Charakter geändert und vor allem die Beziehungen zu den Pneumokokken verloren hatte.

Die allgemein übliche Methode des Nachweises von Pneumokokken in der Mundhöhle durch den Tierversuch mußte als Ergänzung der Plattenuntersuchungen herangezogen werden, um so mehr, als das Ergebnis derselben quoad „echten" Pneumokokken in den untersuchten Fällen negativ verlaufen ist. Ich möchte hier darauf verzichten, auch nur andeutungsweise die Ergebnisse der zahlreichen von anderen Forschern in dieser Richtung unternommenen Untersuchungen wiederzugeben. Alles Wesentliche findet sich in der „Monographie des Rockefeller-Institutes, Nr. 7" (Avery, Chickering, Cole und Dochez: Acute lobarpneumonia), besonders auch die interessanten Angaben über das Vorkommen der verschiedenen Pneumokokkentypen bei gesunden Personen, in der Umgebung Pneumoniekranker, sowie über die Dauer der Anwesenheit von bestimmten Pneumokokkentypen nach Ausheilen einer Pneumonie. Gesunde Personen, die auch nicht in Berührung mit Pneumoniekranken standen, zeigten in 121 von 297 untersuchten Fällen Pneumokokken, davon in 52,9 Proz. solche des Typus IV, in 28,1 Proz. Typus III, in 18,2 Proz. Typus IIa, b, x; Typus II fehlte ganz, Typus I fand sich einmal. Seitz fand bei 53 Untersuchungen des Speichels gesunder Personen zweimal, d. h. in 3,7 Proz., „virulente Pneumokokken" (Klin. Wochenschr. 1922. Nr. 48). Alle diese Resultate sind durch die Methode der Einverleibung des Sputums in die Bauchhöhle der Maus gewonnen. Es fehlen die Angaben darüber, ob die Mundhöhlen der untersuchten Personen, bzw. der Speichel, irgendwelche Besonderheiten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gezeigt haben. Ich glaube auf Grund meiner Untersuchungen, daß es unumgänglich nötig ist, auch bei der Untersuchung gesunder Personen jeden Nebenumstand zu beachten, der hier klärend wirken könnte.

Tabelle 6.
Injektion von 0,75 ccm Sputum intraperitoneal auf weiße Mäuse.

Tag	Nr.	Name	Bemerkungen	Erfolg
1. Mai	1	Dr. D.	—	überlebt
dgl.	2	Dr. K.	st. Raucher	2. Mai tot, Pneumokokken
„	3	Dr. O.	—	überlebt
„	4	Frl. J.	—	16. Mai tot, Pneumokokken
„	5	Frl. M.	—	überlebt
„	6	Dr. Cr.	Raucher	„
„	7	Frl. St.	—	„
„	8	Dr. Ak.	st. Raucher	2. Mai tot, Pneumokokken
„	9	Frl. H.	—	3. Mai tot, Stäbcheninfektion
„	10	Dr. Ts.	—	überlebt
„	11	Dr. R.	—	„
15. Mai	12	Dr. K.	Raucher	16. Mai tot, Pneumokokken
dgl.	13	Herr L.	„	16. Mai tot, Stäbcheninfektion
„	14	Frl. B.	—	überlebt
„	15	Fr. Ch.	—	16. Mai tot, Hämol. Sr.
„	16	Frl. S.	—	überlebt
„	17	Frl. P.	—	16. Mai tot, Stäbcheninfektion
„	18	Frl. K.	Pharyngitis	16. Mai tot, Pneumokokken

Die Tabelle 6 gibt eine Uebersicht über 18 von mir in der gewohnten Weise durchgeführten Untersuchungen. 5mal konnte nach dem Tode der Mäuse die Diagnose auf Pneumococcus gestellt werden. In 3 Fällen handelte es sich um Herren, die mehr oder weniger starke Raucher waren und die übliche chronische Raucherpharyngitis, stärker oder schwächer ausgesprochen, aufwiesen. Der 4. Fall betraf eine Dame, die ebenfalls an der chronischen Pharyngitis litt; nur in einem Falle (Nr. 4) vermißten wir derartige Anzeichen. In 9 Fällen, die wir im Gegensatz zu den eben erwähnten als völlig normal bezeichnen möchten, die auch, bis auf einen, sämtlich Nichtraucher waren, überlebten die Mäuse, ohne je Anzeichen von Krankheit zu zeigen. 3 Mäuse gingen an einer Stäbcheninfektion ohne Kokken im Herzblut zugrunde. In einem anderen Falle fanden sich hämolytische Streptokokken.

Erwähnt sei noch, daß die Untersuchungen mit dem Speichel derselben Personen verschiedentlich wiederholt wurden und regelmäßig dasselbe Resultat ergaben. Das Sputum von Dr. K. (Nr. 2), Dr. Ak. (Nr. 8) sowie mein eigenes töteten regelmäßig, auch in bedeutend geringeren Mengen, innerhalb 24—48 Std. Ebenso ließen sich auch die negativen Befunde zu wiederholten Malen bestätigen.

Die Frage ist nun die: Findet sich tatsächlich in dem Speichel dieser Personen ein Keim, der als Merkmal eines „echten“ Pneumococcus eine entsprechende Wuchsform, Gallelöslichkeit, Optochinempfindlichkeit, Tierpathogenität usw. aufweist, oder handelt es sich um einen Keim, der die Potenz in sich hat, unter geeigneten Bedingungen im Tierkörper sich zum Pneumokokken zu entwickeln? In diesem Falle müßte man annehmen, daß die Beschaffenheit des gleichzeitig einverleibten (nicht normalen) Speichels maßgeblich für die Anzucht innerhalb des Tierkörpers sei.

Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Ich habe oben angeführt, daß die Suche nach dem „echten" Pneumococcus auf der Spatelplatte erfolglos geblieben ist, obwohl ich vorzugsweise den Speichel solcher Personen untersucht habe, bei denen nach dem Ausfall des Tierversuches die Anwesenheit von Pneumokokken zu erwarten war. Dieses negative Ergebnis sagt natürlich nichts. Es ist sehr wohl denkbar, daß der etwa vorhandene Pneumococcus an Zahl so erheblich hinter den saprophytischen Keimen gleicher Wuchsform zurücksteht, daß die Methodik der Plattenisolierung nur durch einen unwahrscheinlichen Zufall Erfolg haben kann. Die Platte würde vielleicht auf Grund der Wuchsbedingungen in künstlicher Kultur die Auswahl nach der negativen Seite hinsichtlich der Pneumokokken treffen, während der Tierversuch im Gegenteil ganz allein die Pneumokokken zur Geltung kommen lassen würde.

Um die Frage zu entscheiden, inwieweit das miteingeführte Medium als solches begünstigend auf die Pneumokokkenanzucht wirken könnte, wurde der Versuch unternommen, eine möglichst große Menge des Sputums der betreffenden Person zu sammeln, scharf abzuzentrifugieren, den Bodensatz mehrfach zu waschen und in Kochsalz aufgeschwemmt, zu injizieren. Parallel wurde die Wirksamkeit des unverdünnten Sputums geprüft.

Protokoll 1.

Vergleich der Virulenz bei Impfung der Mundkeime mit und ohne Rachenschleim.

18. Mai. Maus I. Aufschwemmung gewaschener Kokken aus Rachenschleim 0,7 ccm ip.
19. Punktion: Keine Mikroorganismen.
20. Ganz gesund, überlebt.

18. Mai. „ II. Dasselbe 0,5 ccm sk.
20. Ganz gesund, überlebt.

18. Mai. „ III. Rachenschleim mit gleichen Teilen NaCl-Lösung verdünnt 0,4 ccm ip.
19. Punktion: zahllose freie und phagozytierte Diplokokken.
20. Tot, Pneumokokken im Herzblut.

18. Mai. „ IV. Dasselbe 0,3 ccm sk.
20. Tot. Pneumokokken im Herzblut.

Protokoll 1 zeigt das Resultat eines solchen Versuches. Die beiden Mäuse, die 0,7 ccm intraperitoneal, bzw. 0,5 ccm des Zentrifugates subkutan erhalten hatten, überlebten, während die beiden mit verdünntem Rachenschleim geimpften Mäuse innerhalb 48 Std. mit Diplokokken im Herzblut starben.

Protokoll 2.

Maus I mit unverdünntem Sputum 0,4 ccm intraperitoneal geimpft.
„ II desgleichen mit 0,2 ccm, beide Mäuse am nächsten Tage agonal getötet; reichlich Diplokokken im Herzblute.

Maus III erhält die gesamten in 3 ccm desselben Sputums enthaltenen Bakterien, gewonnen durch mehrmaliges Zentrifugieren und Waschen mit Bouillon, zum Schluß der Bodensatz aufgeschwemmt in 1 ccm NaCl-Lösung.

Maus IV von der gleichartigen Aufschwemmung die Hälfte (entsprechend 1,5 ccm Sputum), nämlich 0,5 ccm.

Maus V wiederum davon die Hälfte, nämlich 0,25 ccm.

Die mit der großen Menge geimpfte Maus III ist nach 24 Std. schwer krank; die Sektion ergibt Diplokokken im Herzblute.

Maus IV und V bleiben dauernd gesund!

Protokoll 2 zeigt einen ähnlichen Versuch mit meinem eigenen Sputum, das in früheren Versuchen sich regelmäßig für Mäuse als tödlich erwiesen hatte. Hier sind die quantitativen Verhältnisse etwas

Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

eingehender berücksichtigt. Es zeigte sich danach, daß zwar schon 0,2 ccm des unverdünnten Sputums imstande waren, in 24 Std. eine Maus (Nr. 2) zu töten, daß hingegen die in 1,5 ccm des Sputums enthaltenen Bakterienmengen nach Ausschleudern, Waschen und Aufschwemmen in Kochsalz die Maus IV nicht zu töten vermochten. Erst die Maus III, die die doppelte Menge, d. h. den Bakteriengehalt von 3 ccm Sputum injiziert erhielt, ging zugrunde und ließ aus dem Herzblut im Plattenverfahren Pneumokokken züchten. Mag man selbst annehmen, daß bei der Prozedur der Sonderung der Bakterien vom übrigen Speichel ein Teil derselben verloren ging, so bleibt doch ein sehr großer Unterschied in der absoluten tödlichen Menge. Man kann sich übrigens durch ein Präparat davon überzeugen, eine wie gewaltige Bakterienmenge in den Kochsalzaufschwemmungen enthalten ist. Die Maus III erhielt im ganzen 1 ccm einer derartigen Aufschwemmung, also ein Volumen, das in seiner schädigenden Wirkung möglicherweise der angenommenen des Speichels gleichzusetzen wäre.

Die Bedeutung der Quantität und Qualität des mit dem Keim eingeführten Mediums für den Ausgang des Tierversuches bei der uns hier beschäftigenden Bakteriengruppe ist in einer Arbeit von Kuczynski und Wolff (Berl. klin. Wochenschr. 1921. Nr. 29) eingehend gewürdigt worden, worauf hiermit verwiesen sei.

Mit dem Angeführten ist natürlich die oben angeschnittene Frage nach der Existenz der Pneumokokken in der Mundhöhle in keiner Weise erledigt. So viel geht nur daraus hervor, daß die absolute Mäusevirulenz dieses mutmaßlichen Pneumococcus eine äußerst geringe ist, daß eine Loslösung von dem ihm genehmen Medium ihn fast völlig seiner Pathogenität beraubt, daß ihm überhaupt die Möglichkeit zur Durchdringung des Mäuseorganismus nur bei der Einverleibung mit diesem Medium selbst oder bei Verwendung einer größeren Bakterienmenge in großem Flüssigkeitsvolumen gegeben ist.

Die Untersuchung der agglutinogenen Natur der verschiedenen durch die Mäusepassage gewonnenen Pneumokokkenstämme erwies sich als geeignet, einige wichtige Fragen grundsätzlich zu klären. Bekanntlich werden diejenigen Pneumokokken, die weder vom Serum I noch II noch III agglutiniert werden, in der systematischen Einteilung unter der Bezeichnung Pneumococcus Typus IV geführt. Man ist sich nur nicht immer darüber im klaren, daß die Bezeichnung Typus recht unglücklich ist und zu Irrtümern Veranlassung geben kann, indem hier gerade solche Pneumokokken zusammengefaßt werden, die nicht „typisiert“ sind, die nicht wie Typus I, II oder III einen der drei immer wiederkehrenden Stempel aufgeprägt erhalten haben. Es erscheint daher praktischer, im Gegensatz zu den genannten 3 „Typen“ in diesem Falle von der „Gruppe IV“ zu sprechen. Diese Gruppe umfaßt tatsächlich eine unberechenbar große Vielheit agglutinatorischer Typen; hieran sind auch alle Versuche, zu einer Einteilung innerhalb dieser Gruppe zu gelangen, gescheitert.

Ich bin nun so vorgegangen, daß ich den aus meinem eigenen Sputum vermittelst Tierpassage gezüchteten Stamm YMP I zur Herstellung eines Immunserums verwandte und dann das Verhalten dieses Serums gegenüber allen ebenfalls aus meinem Sputum durch spätere Tierversuche gewonnenen Stämmen geprüft habe.

Generated on 2019-09-17 13:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle 7.

Agglutination von Pneumococcus IV mit Immunserum, hergestellt aus Stamm YMPI (Yamaguti).

Stamm	Gezüchtet am	Immunserum YMP I			Kontroll-serum	Tag der Agglutination
		1:5	1:10	1:20		
YMP I	29. Sept.	++++	++++	++++	—	20. Okt.
YMP II	25. Okt.	++++	+++	++	—	27. „
YMP III	10. Dez.	+++	+++	++	—	15. Dez.
YMP IV	15. Jan.	++++	++++	+++	—	
Dr. F.	dgl.	—	—	—	—	18. Jan.
„ S.	„	—	—	—	—	
„ K.	„	—	—	—	—	
„ K.	„	—	—	—	—	

Aus der Tabelle geht hervor, daß tatsächlich das Serum YMP I nicht nur den Herstellungsstamm, sondern auch sämtliche zu ganz anderen Zeiten gewonnene Stämme desselben Individuums agglutiniert, daß hingegen kein einziger von 4 weiteren auf dieselbe Weise aus dem Sputum anderer Personen gewonnen, von diesem Serum agglutiniert wird. Hierdurch wird es sehr wahrscheinlich, daß die immer gleichbleibende agglutinatorische Typisierung mit der Person des Trägers zusammenhängt, daß jeder Pneumokokkenträger seinen eigenen, von den anderer Individuen abweichenden sich immer gleichbleibenden Pneumococcus aufweist. Für die Richtigkeit dieser Annahme spricht auch folgende Tatsache. Untersucht man die durch Isolierung mittels der Spatelplatte aus demselben Sputum gewonnenen grünen Stämme auf ihre agglutinatorischen Beziehungen, so kommt man zu den auf Tab. 8 niedergelegten Ergebnissen.

Tabelle 8.

Agglutination direkt aus Sputum von Dr. Yamaguti isolierter Stämme mit Serum YMPI.

	Gezüchtet am	1. Mai	1. Okt.	Kontr.-S.
Stamm Y_1	10. Jan.	++	+	—
„ Y_5	dgl.	++	+—	—
„ Y_{12}	„	+—	—	—?
„ Y_{16}	„	+	+—	+—
„ Y_{22}	„	—	—	—
„ Y_{25}	„	+—	—?	—

Die übrigen gleichzeitig isolierten Stämme wurden nicht agglutiniert.
Stamm YMPI gewonnen durch Mäusepassage aus Sputum Yamaguti.

Es ist natürlich stets nur möglich, eine begrenzte Anzahl derartiger Stämme überhaupt zu agglutinieren. Wie aus Tabelle 1 hervorging, wuchsen nur Stamm Y 1, 5, 12, 16, 22, 25 mit diffuser Trübung als Diplokokken bzw. in kurzen Ketten, während alle übrigen ausschließlich als Bodensatz in langen Ketten wuchsen. Die Agglutination der erstgenannten Stämme ergab nun eine wenn auch nicht sehr hohe, so doch (besonders gegenüber Kontrollen) deutliche positive Reaktion mit dem YMPI, also dem Serum, das mit dem Passage-Pneumokokkenstamm derselben Person hergestellt war.

Um die Frage zu entscheiden, ob diese „Plattenstämme" die Vorstufen der „Passagestämme" seien, wurde der Versuch gemacht, einen

Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

solchen durch Plattenisolierung gewonnenen vom Immunserum YMPI agglutinablen Stamm durch die Maus zu schicken, in der Hoffnung, ihm unter Beibehaltung der agglutinatorischen Einstellung die ihm noch fehlenden Pneumokokkeneigenschaften anzüchten zu können, also den Nicht-Pneumococcus der Platte in den Pneumococcus der Passage zu überführen. Bis jetzt sind die an mehreren Stämmen durchgeführten Versuche an der zu geringen Virulenz der betreffenden Stämme gescheitert; es gelang wohl bei Verwendung sehr großer Dosen das Versuchstier zu töten, aber dabei erhöhte sich weder die Virulenz irgendwie nennenswert, noch war eine Umstellung in Richtung der Pneumokokkenentstehung erreicht. Wenn man allerdings bedenkt, wie gering die Virulenz auch der im Sputum enthaltenen Ausgangsstämme ist, wie schon die einfache Maßnahme der Trennung von dem gewohnten Medium die Virulenz fast bis auf Null herabsinken läßt, erscheint es nicht auffallend, daß die über mehrere Plattenpassagen weitergeführten Stämme nicht mehr imstande sind, das Versuchstier richtig zu infizieren.

Die Frage nach der wahren Natur der Stämme der interessanten Gruppe IV läßt sich nach alledem heute noch nicht entscheiden. Zwar ließen sich auf Grund der Eigenart ihrer agglutinatorischen Einstellung einige Schlüsse auf ihre Beziehungen zu dem Wirtsorganismus ziehen, doch blieb dabei ungeklärt, ob sie in derselben Form, in der sie uns nach der Passage durch die Maus entgegentreten, tatsächlich schon im Wirtsorganismus vorhanden sind, ob also die oben genauer beschriebenen Pneumokokkenträger bereits echte Pneumokokken auf ihren Schleimhäuten beherbergen oder — allerdings agglutinatorisch fixierte — Vorstufen ohne Pneumokokkencharaktere. Wir wissen durch die Untersuchungen von Kuczynski und Wolff (Berlin. klin. Wochenschr. 1921. Nr. 29), daß im Tierkörper ein derartiger Uebergang eines Nicht-Pneumococcus in einen Pneumococcus erfolgen kann; es handelt sich um avirulente typische Viridans-Stämme, die durch geeignete Mäusepassagen zu „Mäuse-Pneumokokken“ gemacht wurden; dieser „wirtseigene“ Stamm ist nun aber agglutinatorisch einheitlich, die vollzogene Anpassung an den Wirt hat sich unter Annahme der für diesen Wirt spezifischen agglutinatorischen Einstellung vollzogen. Dies ist nun gerade bei den Pneumokokkenstämmen der Gruppe IV nicht der Fall; die Vielheit der agglutinatorischen Typen spricht absolut gegen die Annahme, daß die agglutinatorische Typisierung im Mäuseorganismus vollzogen wäre — dagegen spricht auch die große Geschwindigkeit, mit der dieser Prozeß abgelaufen sein sollte[1]). Halten wir demnach an der Vorstellung einer Vorstufe nach Art der durch Isolierung gewonnenen Nicht-Pneumokokken fest, wofür in erster Linie das negative Ergebnis der Ausspatelungsversuche spricht, so sehen wir uns zu der Annahme gezwungen, daß die fraglichen Stämme unter Beibehaltung ihrer agglutinatorischen Einstellung durch die Tierpassage lediglich in den Besitz der übrigen Pneumokokkeneigenschaften gelangt sind.

1) Der oben erwähnte Stamm 28 Y hatte sich zwar auch innerhalb 48 Std. „angepaßt“; hier lagen aber besondere Verhältnisse vor; im allgemeinen dauerte eine derartige Anpassung 6—10—20 Tage und länger.

Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Ueber die Speichelpumpe der Culiciden.

[Aus dem Parasitologischen Laboratorium der Universität Jassy.]

Von Prof. Dr. **N. Leon,** Jassy.

Mit 1 Abbildung im Text.

Im letzten Jahrzehnt ist eine große Anzahl wertvoller Arbeiten über die Culiciden erschienen, in welchem die kleinsten Körperbestandteile dieser Tiere: Schuppen, Haare, Flügeladern, Klauen etc. auf das eingehendste beschrieben werden. Merkwürdigerweise jedoch wurde die Speichelpumpe, ein Organ, dem meiner Meinung nach nicht nur morphologische und physiologische, sondern sogar systematische Bedeutung zukommt, in allen diesen Arbeiten nur flüchtig behandelt.

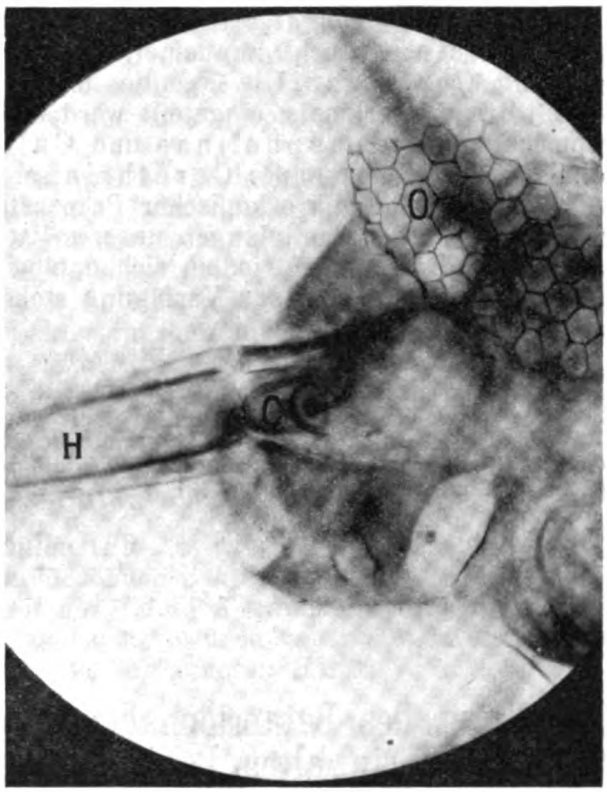


Fig. 1. Mikrophotographie. *C* die Speichelpumpe an der Base der Hypopharynx *H*.

Ich habe die Anwesenheit dieses Organs bei den Culiciden schon 1904 (2) erwähnt und sowohl in meinem Aufsatz über die Verdauung der Culiciden (4), als auch in meiner Monographie der Culiciden Rumäniens (3) sogar eine Mikrophotographie der Speichelpumpe abgebildet. Laveran (1) hat dann mikroskopische Präparate davon von mir verlangt und daraufhin die Speichelpumpe in der 2. Aufl. (S. 183) seines „Traité du Paludisme“ erwähnt.

In vorliegender Notiz möchte ich nun die Aufmerksamkeit auf die Speichelpumpe als Unterscheidungsorgan: 1) zwischen Männchen und Weibchen sowohl bei Culex wie auch bei Anopheles, und 2) zwischen den Unterfamilien der Culiciden lenken.

Die Speichelpumpe der Weibchen ist groß, während sie beim Männchen klein bleibt. Eine andere, vom praktischen Standpunkt aus bemerkenswerte Tatsache ist, daß die Pumpe bei den älteren Individuen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

so groß ist, daß man sie ohne jede andere vorherige Präparierung, als nur die Ueberführung des Kopfes durch absoluten Alkohol und Xylol und dann Einschluß in Kanadabalsam sehen kann.

Die Entwicklung der Pumpe steht in engem Zusammenhang mit der des Mundapparates des Tieres. Das Weibchen, welches einen kräftigen, zum Hautstechen und Blutsaugen eingerichteten Mundapparat besitzt, hat auch eine ziemlich kräftige Speichelpumpe, während das Männchen, das sich nur von verschiedenen Säften ernährt, auch eine nur gering entwickelte Speichelpumpe besitzt.

Wenn wir die 3 Unterfamilien: Anophelinae, Culicinae und Corethrinae miteinander vergleichen, so finden wir, wie die Fig. 1 zeigt, daß bei den 2 ersten die Pumpe die Form einer Sektflasche hat, deren Boden bis an den Hals derselben eingedrückt ist; auf dem Boden befindet sich der Kolben mit seinem Muskel und dem Speichelkanal, während der Flaschenhals sich in einen sehr feinen Kanal verlängert, der dem Hypopharynx entlang verfolgt werden kann.

Dieses, bei allen Gattungen der Unterfamilien der Anophelinae und Culicinae leicht zu bemerkende Organ fehlt vollständig bei der Gattung Corethra. Die Familie der Culicidae könnte also auch nach diesem Merkmale eingeteilt werden in: 1) Culicidae mit einer Speichelpumpe: Anophelinae und Culicinae, und 2) Culicidae ohne eine Speichelpumpe: Corethrinae.

Eine Anzahl mikroskopischer Präparate von der Speichelpumpe behalten wir in den Sammlungen unseres Parasitologischen Laboratoriums, wo sie als Belege gern jedem sich dafür interessierenden Forscher zur Ansicht und Kontrolle zur Verfügung stehen.

Literatur.

1) Laveran, A., Traité du Paludisme. 2. édit. Paris (Masson) 1907. — 2) Leon, N., Vorläufige Mitteilung über den Saugrüssel der Anopheliden. (Zool. Anz. Bd. 27. 1904.) — 3) Ders., Studii asupra culicidelor diu România. Bukarest (Carol Göbl) 1910. — 4) Ders., Contribution a l'étude de la digestion chez les moustiques. (Ann. de Biol. Paris [Fél. Alcan] 1911.)

Nachdruck verboten.

Die Natur des Bakteriophagen und die Bildung von Bakteriophagen in alten Bouillonkulturen pathogener Mikroorganismen.

[Institut für Tropenmedizin in Leiden (Direktor: Prof. P. C. Flu), Abt. Laboratorium für Tropenhygiene.]

Von Prof. **P. C. Flu.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die Tatsache, daß auch außerhalb des menschlichen oder tierischen Organismus oder deren Se- und Exkrete Bakteriophagen entstehen können, wird von vielen Untersuchern als ein Beweis gegen d'Herelles Auffassung betrachtet, daß Bakteriophagen lebendige Organismen sind,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die im Darmkanale vieler Wirbel- und wirbelloser Tiere als obligate Parasiten verschiedener Bakterien leben.

Nach Bail, Otto und Munter, Otto und Winkler, Weinberg und Aznar und anderen bilden sich oft Bakteriophagen in alten Bouillonkulturen von Dysenterie- und Typhusbakterien.

Diese sich gewissermaßen spontan bildenden Bakteriophagen sind, frisch isoliert, wenig aktiv, lassen sich aber nach wenigen Passagen in aktive virulente Bakteriophagen umwandeln.

d'Herelle erklärt das Auftreten solcher Bakteriophagen durch die Annahme, daß verschiedene sogenannte Reinkulturen von Bakterien und speziell von Darmbakterien nur dann den Namen von Reinkulturen verdienen, wenn nur eine Verunreinigung von Schizomyzeten in Betracht kommt. In Wirklichkeit sind solche Reinkulturen aber nicht selten infiziert mit Bakteriophagen. Manche Reinkulturen sind nach ihm nicht „ultrarein". Beim Ueberimpfen impft man mit den Bakterien, welche man von der Stammkultur auf die Oese nimmt, auch Bakteriophagen mit über. Diese entfalten auf feste Medien ihre Wirkung nicht, können aber aktiv werden, wenn die Bakterien in Verhältnisse gebracht werden, welche für die Entwicklung und Vermehrung der Bakteriophagen günstig sind. Solche Verhältnisse findet der Bakteriophag z. B. in Bouillonkulturen.

Bei Kontrolluntersuchungen, welche in meinem Laboratorium vorgenommen wurden, in der Absicht, Bakteriophagen in alten Bouillonkulturen von Dysenteriebakterien aufzufinden, waren die Resultate immer negativ. Ich entschloß mich daher, eine große Versuchsserie anzusetzen und systematisch zu erforschen, ob sich wirklich in alten Bouillonkulturen pathogener Bakterien Bakteriophagen bilden. Im positiven Falle war ich dann in der Lage, festzustellen, ob die Erscheinung oft oder selten auftrat, und vielleicht auch die Erklärung der Erscheinung durch d'Herelle auf deren Richtigkeit zu untersuchen.

Beschreibung des Untersuchungsverfahrens.

Kolben mit 50 ccm Bouillon (Ph 7,5) wurden mit einer Oese der 18-stünd. Kultur der zu untersuchenden Bakterien geimpft. Nach guter Mischung der Kulturmasse mit der Bouillon kamen die Kolben in eine Temperatur von 37° C. 10 Tage später wurde von ungefähr der Hälfte der Kolben der Inhalt filtriert und der anderen Hälfte 1 Std. auf 58° C erwärmt.

Eine Menge des Filtrates sowie die erwärmte Kultur wurde mit der gleichen Menge frischer Bouillon (Ph 7,5) gemischt und das Gemisch wieder mit einer Oese einer 18-stünd. Kultur des Mikroben, der vorher in der Bouillon, die das Filtrat usw. geliefert hatte, gewachsen war, infiziert.

Die Bouillonkulturen kamen danach wieder in eine Temperatur von 37° C, um nach 6-wöchigem Aufenthalt darin noch einmal auf Bakteriophagen untersucht zu werden.

Ich bekam also zur Untersuchung eine Serie von Filtraten alter Bouillonkulturen und eine 2. Serie von gleichalterigen Kulturen, in welchen die Bakterien durch Erwärmen auf 58° C während ½ Std. abgetötet worden waren.

Von der Bouillon, welche zum 2. Male erwärmt oder filtriert worden war, wurden Mengen von 0,2, 0,1 und 0,05 ccm in 5 ccm Nährbouillon

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gebracht und diese mit so viel einer 18-stünd. Kultur der Bakterie, die zur Demonstration der Lysis dienen sollte, gemischt, daß eine leicht trübe Emulsion entstand (etwa 250 à 300 000 000 Keime auf 1 ccm der Bouillon). Von der infizierten Bouillon wurden dann 0,5 ccm auf die Oberfläche eines Schrägagarröhrchens ausgebreitet und nachher kam die Bouillon und das Agarröhrchen in eine Temperatur von 37° C, um nach 24-stünd. Brutzeit auf die Lysis und „Inseln" untersucht zu werden.

Von jedem Bouillonfiltrat und von jeder durch Erwärmen für die Untersuchung auf Bakteriophagen vorbereiteten Bouillonkultur wurde das lytische Vermögen aller zu dem Versuche genommenen und der in der Bouillon gewachsenen gleichartigen Keime untersucht. So wurde z. B. das Filtrat einer Bouillon, in welcher Choleravibrionen gewachsen waren, mit denen aller Choleravibrionen meiner Sammlung, die auf Lysis untersucht wurden, verglichen. Zeigte sich bei der Kontrolle der Bouillon oder auf dem Agar irgend eine Veränderung, die auch nur im entferntesten Aehnlichkeit mit Erscheinungen hatte, wie sie von Bakteriophagen hervorgerufen werden können, so wurde versucht, durch wiederholte Filtration und Neuinfektion die Aktivität der in der Flüssigkeit vermuteten Bakteriophagen besserer Demonstration wegen zu erhöhen. Erst nachdem alle diesbezüglichen Bemühungen kein Resultat ergeben hatten, wurde ein negativer Ausschlag notiert.

Zur Untersuchung gelangten Kulturen aus der Sammlung meines Laboratoriums. Alle diese Stämme waren schon seit Jahren isoliert und zwar teils in Europa, teils in den Tropen und sind selbstverständlich nach ihrer Isolation wiederholt überimpft worden.

13 Cholerastämme waren während verschiedener Choleraepidemien auf Java aus den Dejekten von Cholerapatienten isoliert worden. Von 6 Typhusbakterien war nur einer in Indien, die anderen in Europa isoliert worden, von 4 Shiga-Kruse-Stämmen waren 2 aus Europa, die anderen aus den Tropen und die Flexner- und Y-Stämme stammten bis auf 6 alle aus den Tropen. Im ganzen kamen Flexner- und Y-Stämme zur Untersuchung. Erwähnung verdient noch, daß der Stamm Y 14, der einzige, der, wie sich bald zeigte, die Fähigkeit hatte, in den alten Bouillonkulturen einen Bakteriophagen zu bilden, in Batavia 1918 isoliert worden war.

Zeigte sich bei dieser Untersuchung, daß sich in alten Bouillonkulturen von pathogenen Bakterien ein Bakteriophage gebildet hatte, dann wollte ich den Sammlungsstamm, mit dem die den Bakteriophagen liefernde Bouillon geimpft war, ultrarein züchten. Der ultrarein gezüchtete Stamm sollte dann wieder auf sein Vermögen, Bakteriophagen spontan zu bilden, untersucht werden.

Zur Ultrareinzüchtung wurde nach einem von Roux angegebenen Verfahren zur Reinzüchtung von Diphtheriebakterien vorgegangen: Die Spitze eines sehr dünnen Platindrahtes wurde ganz leicht mit der Oberfläche einer 18-stünd. Agarkultur der betreffenden Bakterie in Berührung gebracht. Die geringe Menge der Kulturmasse, welche an der Spitze kleben blieb, wurde in der kleinen Menge von etwa 5 ccm Bouillon genau suspendiert. Dann wurde der Draht geglüht und nach Abkühlung wieder in die Suspension getaucht. Die geringe, an der Drahtspitze hängende Menge der Flüssigkeit wurde gut gemischt mit dem Kondenswasser eines schräg erstarrten Agarröhrchens, worauf durch Drehen des Röhrchens die ganze Oberfläche des Agars mit der Flüssigkeit benetzt wurde. Nach 24-stünd. Verbleiben im Brutschranke bildeten

Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

sich auf der Oberfläche des Agars einige isolierte Kolonien. Die am weitesten vom Kondenswasser entfernt liegende Kolonie wurde jetzt zur weiteren Reinigung abgeimpft, in derselben Weise, mit der diese Art reingezogen war usw.

Um ganz sicher zu sein, daß die Kulturen rein waren, wurde jede Kultur erst dann als vollkommen rein betrachtet, nachdem die Reinigung 12mal vorgenommen worden war, obwohl d'Herelle angibt, daß man schon nach 6 Uebertragungen auf reine Kulturen rechnen kann.

Resultate.

Nur einer der 43 untersuchten Bakterienarten und -Stämme lieferte eine Bouillonkultur, aus welcher die Isolation eines Bakteriophagen gelang. Dies war der Fall bei einer Flüssigkeit, die aus einem Kolben stammte, in dem ein Gemisch von 25 ccm Bouillon, 25 ccm einer 1 Mon. alten Bouillonkultur von Y 14, in welcher die Bazillen durch Erwärmen getötet waren, und schließlich 1 Oese 18-stünd. Y 14, während 1 Mon. bei 37° C gestanden hatten.

Das Resultat der Untersuchung dieses Gemisches zeigt die untenstehende Tabelle.

Tabelle 1.

Die Wirkung des „spontan" aus Y 14 gebildeten Bakteriophagen auf die verschiedenen, in den Versuch aufgenommenen Y-Bazillen.

0,1 ccm einer 6 Wochen alten Bouillonkultur von Y 14 gegenüber	Die Bouillon war nach 24 Std.	Es bildeten sich auf den Agar Plaques?
Y 14	trübe	einige Plaques
Y 15	„	„ „
Y 16	klar	„ „
Y 17	„	viele Plaques
Y 18	„	„ „
Y 19	„	„ „
Y 70	„	„ „
Y 71	„	keine Plaques
Y 72	trübe	einige Plaques
Y 73	klar	sehr viele Plaques
Y 74	„	„ „ „
Y 75	„	viele Plaques
Y 77	trübe	„ „

Dieses Resultat zeigt, daß in alten Kulturen pathogener Bakterien, hier giftarmer Y-Bakterien, sich ein Bakteriophag bilden kann, und daß letzterer nicht nur auf die Bazillen, welche ihn lieferten, sondern auch auf den Artgenossen wirkt.

Außerdem zeigt mein Resultat, daß sich die Erscheinung nicht leicht auslösen läßt, vor allen Dingen nicht mit alten, schon lange fortgezüchteten und wiederholt überimpften Laboratoriumsstämmen.

Ich versuchte jetzt, Y 14 nach dem oben beschriebenen Verfahren ultrarein zu züchten: Für die Reinzucht wurde nicht nur die Stammkultur gewählt, sondern auch eine Kultur, welche sich aus der Bouillon bildete, welche mit Y 14 infiziert war (1. Reihe von Tab. I).

Auf dem Schrägagar, der mit dieser Kultur bestrichen war, bildete sich ein Rasen mit einigen deutlichen Inseln („Plaques"). Bekanntlich können in solchen Bouillonkulturen, in denen nach eingetretener Lysis

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Bouillon sich wieder trübt, nur gegen den betreffenden Bakteriophagen mehr oder weniger resistente Keime wachsen. Es war daher nicht ohne Interesse, einen Vergleich zwischen beiden Stämmen zu ziehen.

Nach jeder Isolationsetappe wurde daher nicht nur die Kolonie, welche für die weitere Reinigung dienen sollte, abgeimpft, sondern auch 4 oder, wenn möglich, mehr Kolonien. Das Material solcher Kolonien wurde in Bouillonröhrchen suspendiert und die geimpften Röhrchen in den Brutschrank bei 37° C gestellt, um nach 1-monat. Aufenthalt bei dieser Temperatur auf Bakteriophagen untersucht zu werden.

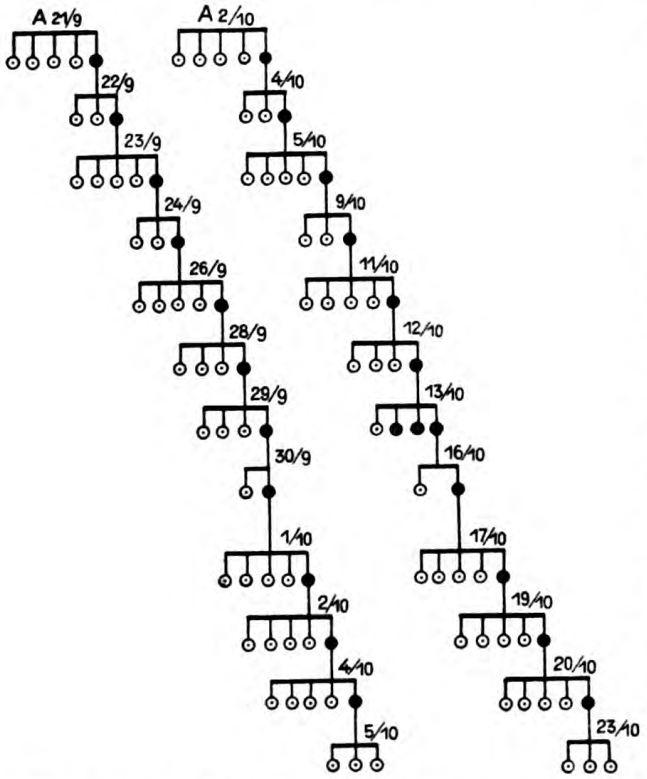


Fig. 1. A = Y 14 aus der Bouillon, in der mit Bakteriophagen gewachsen war,
● = Kolonien, die Material für die sukzessive, Reinzüchtungen lieferten,
⊙ = Kolonien, die in Bouillon suspendiert werden,
▨ = Kolonien, aus deren Bouillonkulturen es gelang, einen Bakteriophag zu züchten.

Auch wurde von der Stammkultur, die gereinigt wurde, in jedem von 4 mit 100ccm Bouillon gefüllten Kolben 1 Oese emulsioniert. Diese Kolben wurden mit I, II, III und IV bezeichnet, bei 37° C gehalten und nach 1-monat. und längerem Verweilen bei dieser Temperatur auf Bakteriophagen untersucht.

Da zur Reinigung von Y 14 die Isolation 12mal vorgenommen werden sollte und jedesmal 4 Kolonien in Bouillon suspendiert wurden, mußten also nach 1 Mon. zur Untersuchung gelangen: 4 Kolben, die mit dem Sammlungsstamm Y14 infiziert waren, ferner 48 Röhrchen, infiziert mit Kolonien von steigender Reinheit vom Sammlungsstamm Y 14 und dem Stamm B Y 14, und schließlich 48 Röhrchen, die mit Kolonien von ebenfalls steigender Reinheit infiziert, aber aus dem mit Plaques gemischten, aller Wahrscheinlichkeit nach Bakteriophagen enthaltenden, aber resistenten, im folgenden als A Y 14 bezeichneten Stamm infiziert waren.

Da 2 Röhrchen sich mit Luftkeimen infiziert zeigten und einige Male die Isolation von 4 Kolonien unmöglich war, weil sich weniger als 5 Kolonien auf dem Agar zeigten, betrug die Zahl der untersuchten Röhrchen nur 86.

Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Die Untersuchung auf Bakteriophagen wurde bei den Kulturen aus den Kolben nach 5 und 10 Tagen und nach 1-, 2- und 3-monat. Aufenthalt bei 37° C vorgenommen: Nach 1 Mon. wurde die eine Hälfte des Inhaltes eines Bouillonröhrchen auf Bakteriophagen untersucht und die andere mit derselben Menge steriler Bouillon wie im vorigen Versuch gefüllt, wieder bei 37° C hingestellt und die 2. Untersuchung nach 1 Monat vorgenommen.

Resultate der Untersuchung der Kolben.

Nach dem 5. und 10. Tage des Aufenthalts bei 37° C hatte die Untersuchung des Kolbeninhaltes ein negatives Resultat.

Bei einer 3. Untersuchung, die 1 Mon. nach der Infektion vorgenommen wurde, zeigte sich im Kolben III ein schwacher Bakteriophage mit geringer Wirkung, der nicht nur Y-Bazillen, sondern auch Flexner- und Shiga-Kruse-Bazillen auflöste.

Eine spätere Untersuchung nach 2- und 3-mon. Aufenthalt der Kolben bei 37° C zeigte, daß die anderen Kolben negativ geblieben und der Bakteriophag im Kolben III etwas an Virulenz zugenommen hatte.

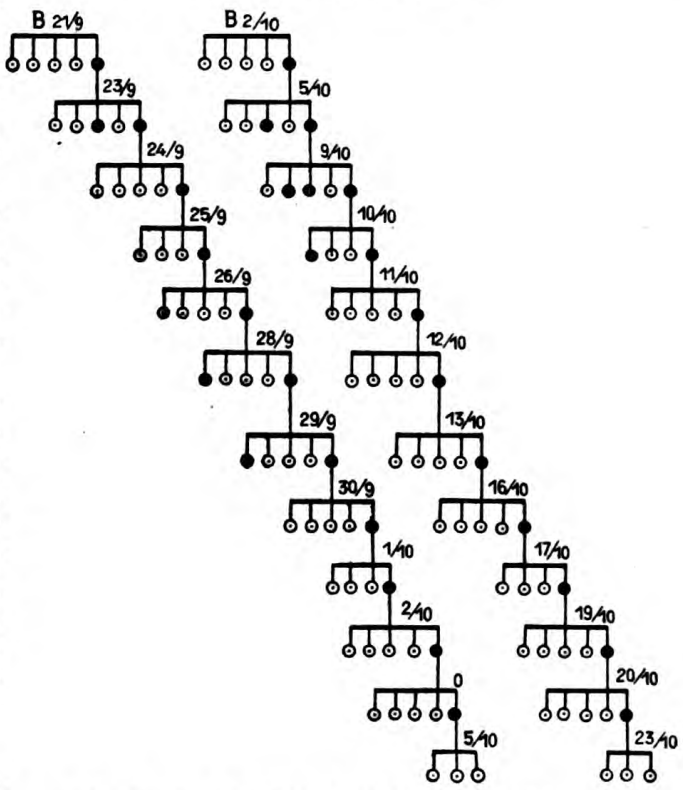


Fig. 2. B = Y 14 der nicht gereinigte Stamm aus der Sammlung,
⊙ = Kolonien, die in Bouillon suspendiert wurden,
• = Kolonien, die Material für die sukzessive Reinzüchtungen lieferten,
◍ = Kolonien, aus welchen Bouillonkulturen es gelang, ein Bakteriophag zu bekommen.

Resultate der Untersuchung der Röhrchen.

Alle mit Kolonien von dem Stamm A Y 14 (siehe oben) infizierten Röhrchen zeigten sich bei der 1. Untersuchung, die 1 Mon. nach der Infektion vorgenommen wurde, frei von Bakteriophagen. Bei der 2., 1 Mon. später stattgefundenen Untersuchung gaben 2 der Röhrchen, die infiziert waren mit Kolonien von der 6. Reinkultur, einen Bakteriophagen.

Die Röhrchen mit positivem Befunde sind unter I bezeichnet als A_3 13/10 und A_2 13/10.

Bezüglich der Wirkung dieser Bakteriophagen auf Y 14, Y 19, Y 70 und Y 73 siehe untenstehende Tabellen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 2.

A_3 13/10	gegenüber	Y 14	3 Plaques
„ „	„	Y 19	negativ
„ „	„	Y 70	„
„ „	„	Y 73	„

Nach Filtration der Bouillon aus dem Röhrchen infiziert mit Y 14

Filtrat von			
A_3 13/10 + Y 14	gegenüber	Y 14	keine Plaques
„ „ + „	„	Y 19	dgl.
„ „ + „	„	Y 70	„
„ „ + „	„	Y 73	„

Der Bakteriophag aus diesen Röhrchen war also ein sehr schwacher und wurde selbst durch den Y 14, aus dem er isoliert war, nicht aktiviert; er wurde aber durch Y 14 vernichtet.

Tabelle 3.

A_2 13/10	gegenüber	Y 14	2 Plaques
„ „	„	Y 19	10 „
„ „	„	Y 70	1 „
„ „	„	X 73	fraglich?

Nach Filtration der Bouillon aus dem Röhrchen infiziert mit Y 14

Filtrat von			
A_2 13/10 + Y 14	gegenüber	Y 14	keine Plaques
„ „ + „	„	Y 19	einige „
„ „ + „	„	Y 70	isolierte Kolonien; die Bouillon klar
„ „ + „	„	Y 73	dgl.

Nach Filtration der Bouillon aus den Röhrchen infiziert mit Y 70 und Y 73.

Filtrat von			
A_2 13/10 + Y 14 + Y 70 und Y 73	gegenüber	Y 14	viele Plaques; Bouillon klar
dgl.	„	Y 19	dgl.
„	„	Y 70	„
„	„	Y 73	„

Der Bakteriophag aus diesem Röhrchen wurde also auch hier durch den Stamm, der ihn geliefert hatte, destruiert, konnte aber durch andere Y-Stämme aktiviert werden und zeigte sich nachher auch gegenüber Y 14 sehr wirksam.

Die Untersuchung des Stammes B Y 14 hatte schon bald ein positives Resultat. Dieser Bakteriophag zeigte sich anderen Y-Stämmen gegenüber als aktiv, wie aus folgenden Tabellen ersichtlich ist:

Tabelle 4.

B_3 23/9	gegenüber	Y 14	keine Plaques
„ „	„	Y 17	sehr viele Plaques
„ „	„	Y 19	dgl.
„ „	„	Y 70	viele Plaques
„ „	„	Y 73	keine Plaques
„ „	„	Y 74	sehr viele Plaques.

Bei der 2. 1 Mon. später wiederholten Untersuchung (s. Fig. 1 u. 2) zeigten sich außerdem noch positiv: B_2 9/10 und B_3 9/10.

B_3 5/10 aus denselben Kolben, die B_3 23/10 geliefert hatten, zeigte sich auch jetzt ohne Wirkung auf Y 14, wurde aber dem Y 14 gegenüber nach Passagen auf Y 70 und Y 73 virulent.

Das Verhalten von B_2 9/10 und B_3 9/10 zeigen folgende Tabellen:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 5.

B_2	9/10	gegenüber	Y 14	negativ
„	„	„	Y 17	viele Plaques
„	„	„	Y 74	dgl.

Tabelle 6.

B_3	9/10	gegenüber	Y 14	negativ
„	„	„	Y 17	viele Plaques
„	„	„	Y 74	dgl.
„	„	„	Y 73	negativ

Schließlich zeigte sich noch positiv:

B_1	10/10	gegenüber	Y 14	negativ
„	„	„	Y 17	„
„	„	„	Y 70	„
„	„	„	Y 73	viele Plaques

Aus diesen Resultaten können folgende Schlüsse gezogen werden: 1) Nicht in jeder alten Bouillonkultur von Y 14 bildet sich ein gegen Y-Bazillen aktiver Bakteriophage. 2) Junge, sich vermehrende Individuen von Y 14 haben eine gewisse Resistenz gegenüber den Bakteriophagen, die in alten Bouillonkulturen der gleichen Bakterien sich bilden. 3) Junge Kulturen von Y 14 sind imstande, die Wirkung der in alten Bouillonkulturen dieser Bakterien sich bildenden Bakteriophagen aufzuheben. 4) Es gelingt, einen Bakterienstamm, in casu Y 14, der, wie sich zeigte, imstande ist, in alten Bouillonkulturen Bakteriophagen entstehen zu lassen, durch wiederholte Impfung auf Agarröhrchen so weit zu reinigen, daß sich in den alten Bouillonkulturen solcher gereinigten Bazillen kein Bakteriophage mehr bildet.

Ein Anhänger der Kontaminationstheorie könnte theoretisch erwarten, daß sich in jedem Röhrchen, das mit der Stammkultur Y 14 geimpft war, ein Bakteriophage bilden würde. Die von mir ermittelten Tatsachen beweisen aber, daß dies sicher nicht der Fall ist.

Von den 4 Kolben, die mit einer ganzen Oese von ungereinigtem Y 14 geimpft waren, lieferte nur 1 einen Bakteriophagen. Von den 86 untersuchten Kolonien gereinigter und ungereinigter Y 14 gaben nur 6 ein positives Resultat.

Betrachtet man den Stamm Y 14 erst nach der 8. Isolation als rein, so hatten 57 nicht ganz reine Kolonien von Y 14 6mal ein positives Resultat.

Dieses Ergebnis braucht nicht sofort gegen die Kontaminationstheorie zu sprechen, habe ich doch in den vorhergehenden Zeilen gezeigt, daß Bakteriophagen, welche sich in alten Kulturen von Y 14 bilden, durch junge, wachsende Y 14-Bazillen destruiert werden. Man stützt sich demnach auf Tatsachen, wenn man sich vorstellt, daß der Bakteriophage zwar in jedem der Kolben und Röhrchen entstanden ist, aber so schwach war, daß er sofort nach seinem Freiwerden durch die in der Bouillonkultur sich vermehrenden Y 14-Bazillen unwirksam gemacht, oder jedenfalls so verändert wird, daß er sich unserer Beobachtung entzieht.

Viel mehr gegen d'Herelles Auffassung zu sprechen schien mir die Tatsache, daß der Bakteriophag anscheinend sich nur in sehr alten Bouillonkulturen bildete.

Unter den Autoren, welche die Bakteriophagen als Fermente betrachten, nimmt eine Gruppe an, daß die Bakteriophagen eine Art Autolysine darstellen. Solche Autolysine entstehen bekanntlich in alternden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kulturen. Durch eine noch unbekannte Ursache sollten solche Autolysine auch auf junge Bakterien wirken und sogar durch solche produziert werden können und diesen die Eigenschaft verleihen, die Lysogenität auf ihre Nachkommen zu übertragen. Wenn auch diese Erklärung sehr gekünstelt ist, mußte man doch mit ihr rechnen.

Von den vier oben mitgeteilten Resultaten konnte also nur das unter 4 erwähnte für die Kontaminationstheorie d'Herelles sprechen.

Wollte man tiefer in das Wesen der Prozesse, welche sich in alternden Bouillonkulturen abspielen, eindringen, so war es erwünscht, nachzuforschen, ob auch aus ganz jungen, noch nicht 24 Std. alten Kulturen von Y 14 ein Bakteriophag zu isolieren war.

Ich konnte bei der Einrichtung der Versuche, welche ich in dieser Richtung anstellte, Erfahrungen verwenden, welche ich bei früheren Untersuchungen über Bakteriophagen gesammelt hatte.

Eine Untersuchung, die ich anstellte über einen gegenüber Flexner-Bakteriophagen spontan resistenten Flexner-Stamm, zeigte mir, daß man durch Behandlung von Bakterien, welche sich mit Bakteriophagen gesättigt haben, mit wasserfreiem Na_2SO_4 in der Lage ist, Bakterien und Bakteriophagen zu trennen.

Weiter wurde schon erwähnt, daß verschiedene Y-Stämme imstande sind, schwache Bakteriophagen aus alternden Bouillonkulturen von Y 14 zu aktivieren. Gelang es daher, junge Agarkulturen von Y 14 mittels wasserfreien Na_2SO_4 zu zerstören, dann mußte es auch gelingen, eventuell in dem Protoplasma solcher Bazillen vorhandene Bakteriophagen zu isolieren. Bot man nun diesen gewissermaßen sich in statu nascendi befindlichen Bakteriophagen Y-Bazillen, welche, wie ich zeigte, imstande sind, solche Bakteriophagen zu aktivieren, zur Nahrung, so wäre es wahrscheinlich, daß es gelingen könnte, solche Bakteriophagen zu demonstrieren.

Um diese Möglichkeit zu erforschen, wurden 3 Versuchsserien angestellt:

1) 3 junge, 18 Std. alte Kulturen von Y 14 wurden in einigen Kubikzentimetern 0,9-proz. NaCl-Lösung suspendiert und mittels sicher wasserfreien Na_2SO_4 zur festen Masse verbunden. Diese Masse wurde dann im Achatmörser fein zerrieben, das Pulver in 40 ccm Bouillon suspendiert und während $^1/_2$ Std. geschüttelt, wonach die Suspension während 1 Std. auf 60° C erhitzt und mit Bouillon auf 80 ccm gebracht wurde.

In jeden der mit 50 ccm Bouillon gefüllten Kolben kamen jetzt 10 ccm der Suspension und weiter so viel einer 18-stünd. Kultur von Y 70 und Y 73, daß die Bouillon leicht trübe erschien. Die Kolben kamen dann in eine Temperatur von 37° C und wurden nach 24 Std. und nach 1 Monat auf Bakteriophagen untersucht.

2) 3 18-stünd. Schrägagarkulturen wurden genau, wie oben beschrieben, mit Na_2SO_4 behandelt. Die Suspension des Bakterienpulvers und das Salz wurde aber nach dem Schütteln nicht erwärmt, sondern durch einen Bakterienfilter filtriert und dadurch sterilisiert. Das Filtrat wurde außerdem zur Sicherstellung der Sterilität untersucht und das sicher sterile Filtrat auf 8 Kolben, deren jeder 50 ccm enthielt, verteilt. In jeden Kolben kamen noch, genau wie im vorigen Versuche, so viel 18-stünd. Y 70 und Y 73, daß sich eine leicht trübe Flüssigkeit bildete. Auch diese infizierten Kolben wurden bei 37° C aufgestellt und nach 24 Std. und nach 1 Monat untersucht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) Schließlich wurden zur Kontrolle 3 Schrägagarkulturen 18-stünd. Y 14 in 20 ccm Bouillon suspendiert. Die eine Hälfte der Suspension wurde während 1 Std. auf 60° C erwärmt, die andere nicht. Die erwärmte Suspension wurde ebenso wie die noch lebenden Y 14-Bazillen jede für sich auf 4 Kolben, jeder 50 ccm enthaltend, verteilt und außerdem noch jeder Kolben mit einer Spur Y 70 und Y 73 infiziert.

Der Inhalt dieser Kolben kam nach 3-wöchig. Aufenthalt bei 37° C zur Untersuchung. Das Resultat dieser Untersuchungen zeigt Tabelle 7.

Tabelle 7.

Nummer des Kolbens	Kolben, gefüllt mit: erwärmter Suspension von mit Na_2SO_4 zerriebenen Y 14 + jungen Y 70 und Y 73. Bakteriophagen gegen			Kolben, gefüllt mit: filtrierter Suspension von mit Na_2SO_4 zerriebenen Y 14 + jungen Y 70 u. Y 73. Bakteriophagen gegen			Kolben, gefüllt mit Bouillon, enthaltend: lebende Y 14 + lebende Y 70 und Y 73. Bakteriophagen gegen			Kolben, gefüllt mit Bouillon, enthaltend: tote Y 14 + lebende Y 70 und Y 73. Bakteriophagen gegen		
	Y 14	Y 70	Y 73	Y 14	Y 70	Y 73	Y 14	Y 70	Y 73	Y 14	Y 70	Y 73
Kolben 1	—	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
„ 2	—	+	St. +	St. +	St. +	—	—	—	—	—	—	—
„ 3	St. +	St. +	St. +	+	—	—	—	—	+	+	—	—
„ 4	St. +	St. +	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—
„ 5	+	—	St. +	—	St. +	St. +						
„ 6	+	St. +	St. +	+	—	—						
„ 7	+	+	—	—	—	St. +						
„ 8	+	+	+	—	+	—						

Bei Betrachtung dieser Resultate muß man bedenken, daß weder Y 70 noch Y 73 imstande sind, in ihren alternden Bouillonkulturen Bakteriophagen zu bilden.

Dies zeigte sich nicht nur in meinen Versuchen deutlich, sondern auch in solchen, welche von Herrn Pondman in meinem Laboratorium angestellt wurden. Letzterer teilte seine Untersuchung ein nach der Fähigkeit des Y-Stammes, sozusagen spontane Bakteriophagen zu bilden. Bei dieser Untersuchung wurden alle von mir gebrauchten Stämme von Y 14 verschiedenen Prozeduren, welche nach Angabe verschiedener Autoren imstande sind, Bakteriophagen aus den Bakterien freizumachen, unterworfen.

Nur Y 14 gab positive Resultate, alle anderen Stämme aber verhielten sich absolut negativ. Man kann also mit Sicherheit behaupten, daß der Bakteriophag der in den Kolben nachgewiesen ist, von Y 14 stammt.

Die Resultate dieser Versuche zeigen also überzeugend, daß das lytische Prinzip nicht, wie man allgemein anzunehmen geneigt ist, in alternden Bouillonkulturen entsteht, oder sich bei der Filtration und Erhitzung der Bakterien bildet, sondern als solches bereits in den ganz jungen, sich noch vermehrenden Bazillen enthalten ist.

Besonders demonstrativ ist in dieser Hinsicht der Versuch mit der filtrierten Suspension. Die Bazillen waren hier zerrieben und die Bazillenleiber nachher durch Filtration durch Kerzen aus der Flüssigkeit entfernt worden. Es war daher in diesem Versuch ganz ausgeschlossen, daß der Bakteriophage, welcher aus fast allen mit dem Filtrat gemischten Kolben isoliert wurde, durch Autolyse von eventuell noch vorhandenen Bazillenleibern entstanden war.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Daß solche tote Bazillenleiber den Bakteriophagen auf andere Y-Bazillen übertragen können, zeigen alle anderen, in Tabelle 7 protokollierten Versuche.

Resumiere ich jetzt, was sich aus den vorhergehenden Versuchen ergibt, so zeigt sich:

a) Daß unter 13 daraufhin untersuchten Y-Stämmen nur einer, und zwar ein seit 1918 in meinem Laboratorium fortgezüchteter Stamm, die Fähigkeit hat, in den alten Bouillonkulturen einen gegen andere Y-Stämme wirkenden Bakteriophagen zu produzieren.

b) Daß es durch wiederholte Transmissionen auf Agar, wenn man dabei einer bestimmten Methode folgt, gelingt, den Stamm Y 14 von den in ihm enthaltenen Bakteriophagen zu reinigen, und daß der gereinigte Stamm die Fähigkeit, in seinen alternden Bouillonkulturen Bakteriophagen zu bilden, verloren hat.

c) Daß der Bakteriophage nicht, wie man fast allgemein behauptet, in alten, gewissermaßen in Autolyse befindlichen Bakterienkulturen entsteht, sondern schon in den ganz jungen Bakterien enthalten ist.

d) Daß es gelingt, die Bakteriophagen von solchen jungen Bakterien zu trennen.

Da also das lytische Prinzip, unser Bakteriophage, schon in den auf Agar wachsenden Bakterien enthalten ist, muß nicht nur der logische Schluß gezogen werden, daß er nicht in der Bouillon entsteht, sondern auch, und das ist meiner Ansicht nach von der allerhöchsten Bedeutung, daß der Bakteriophag sich von Agarröhrchen auf Agarröhrchen überimpfen läßt.

Weiter ist gezeigt worden, daß Bakterien durch Bakteriophagen infiziert werden können (Flatterformen von Gildemeister, Wahrnehmungen von Seiffert, von d'Herelle und eigene Wahrnehmungen). Ich habe ferner auch gezeigt, daß man die Bakterien von den infizierenden Bakteriophagen trennen kann.

Wir haben also die Infektion eines Bazillus durch einen Bakteriophagen als eine Möglichkeit kennen gelernt, haben gesehen, daß man diesen Bakteriophagen von den infizierten Bakterien trennen kann, und das gestattet den Schluß, daß Bakteriophag und Bakterien zwei voneinander unabhängige Gebilde sind, was meiner Ansicht nach sicher der Fall ist.

Wir stellen uns jetzt weiter die Frage: Ist der Bakteriophag ein lebendiges Wesen oder ein Ferment?

Man kann infolge meiner Resultate nicht anders, als annehmen, daß Y 14 bereits bei seiner Isolation in Indien mit den in ihm enthaltenen Bakteriophagen infiziert war. Seitdem ist er mehr als 400mal, in der letzten Zeit fast täglich, von Agarröhrchen auf Agarröhrchen überimpft worden, und da, wie ich gezeigt habe, der Bakteriophag schon in den jungen Bakterien vorhanden ist, hat man bei jeder Ueberimpfung mit den Bakterien auch den Bakteriophagen auf das Röhrchen gebracht.

Betrachtet man den Bakteriophagen als Ferment, dann muß man es für möglich halten, daß ein Ferment, eine unbelebte Substanz, sich während 5 Jahren von Agarröhrchen auf Agarröhrchen impfen läßt und auf solchen Röhrchen wächst, denn es vermehrt sich. Man kann sich dies nur dann vorstellen, wenn man annimmt, daß das Ferment sich neben oder in den lebenden und auf dem Agar wachsenden Bakterien vermehrt.

Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Meine Untersuchung hat überzeugend bewiesen, daß die sich vermehrenden Y 14-Bazillen die Neigung haben, die Bakteriophagen zu destruieren, und daß sie dies auch tatsächlich tun.

Der mit den Y 14-Bazillen überimpfte Bakteriophage kann sich unter derartigen Umständen nur erhalten, wenn er fähig ist, sich gegen den deletären Einfluß der wachsenden Y 14-Bazillen zu wehren.

Man wird mir zustimmen, daß eine Vorstellung, welche einem Ferment die Fähigkeit zuschreibt, eine Bakterie zu infizieren, sich auf Kosten der infizierenden Bakterien zu vermehren, sich mit Bakterien auf festen Nährboden überimpfen zu lassen, später wieder von diesen Bakterien zu isolieren ist und sich außerdem noch gegen schädliche Einflüsse zu wehren und sich geänderten Umständen zu adaptieren, sehr gezwungen und gekünstelt ist.

Nimmt man aber mit d'Herelle an, daß der Bakteriophag ein lebendiges, ein ultramikroskopisches, invisibles und filtrierbares Wesen ist, das als obligater Parasit verschiedener Bakterien leben kann und normal im Darmkanale vieler Tiere und auch des Menschen anzutreffen ist, dann hat man nicht nur Analogien mit schon bekannten und gut begründeten Tatsachen, sondern man kann sich auch besser vorstellen, wie ein solches Wesen Bakterien infiziert, sich mit diesen überimpfen läßt und dann, wieder von den Bakterien getrennt, andere Bakterien anfallen kann, imstande ist, sich zu wehren gegen seinen Wirt und sich schließlich geänderten Umständen zu adaptieren.

Ohne jetzt behaupten zu wollen, daß durch meine Untersuchung absolut sicher die lebende Natur des Bakteriophagen bewiesen ist, betrachte ich doch meine Resultate als besonders geeignet, d'Herelles Auffassung von der lebenden Natur des Bakteriophagen stark zu stützen.

Wenn ich außerdem die Resultate dieser Untersuchung im Zusammenhang betrachte mit anderen Eigenschaften des Bakteriophagen, z. B. mit seinem Vermögen, sich zu vermehren, zu variieren, seine Individualität beizubehalten, sich wie die Erreger der Pocken und Tollwut durch Kolloidfilter filtrieren zu lassen (Levaditi, Nicolau), so wird es für mich zur Gewißheit, daß der Bakteriophag kein Ferment, sondern ein lebendiges Wesen ist.

Bestätigen spätere Untersuchungen, welche jetzt im Gange sind, die Resultate von Prausnitz und Wolf über Adaptation von Bakteriophagen resp. an Antibakteriophagenserum und an Desinfectantia, dann muß man, alle Eigenschaften des Bakteriophagen im Zusammenhange betrachtend, d'Herelle zustimmen, daß der Bakteriophag ein lebendiges Wesen ist.

Jedenfalls ist es für die Lösung dieses Problems von allergrößter Wichtigkeit, daß man unbefangen der Erforschung aller von d'Herelle hervorgehobenen Eigenschaften des Bakteriophagen gegenübersteht, und nicht handelt, wie viele Untersucher, die schon nach wenigen und dazu noch einseitigen Experimenten, sich mit aller Bestimmtheit für die Fermentnatur des Bakteriophagen aussprechen.

Ich stimme Woodcock insofern vollkommen bei, daß man, so handelnd, der wissenschaftlichen Erforschung des Problems keinen Dienst leistet.

Leiden, Januar 1923.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literaturangaben.

Bail, Oskar, Bakteriophage Wirkungen gegen Flexner- und Coli-Bazillen. (Wien. klin. Wochenschr. 1921. Nr. 34. S. 447—449.) — Ders., Ueber Shiga-Bakteriophagen. (Ebenda. 1921. Nr. 34. S. 555 u. 556.) — Munter, Otto, u. Winkler, St., Beiträge zum d'Herelleschen Phänomen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 96. S. 118.) — Weinberg, M., et Aznar, P., Autobactériolysines et le phénomène de d'Herelle. (Compt. rend. Soc. de Biol. T. 86. 1922. p. 833. u. 834. Paris 1922.) — Seiffert, W., Das d'Herellesche Phänomen als exogene Autolyse der Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 98. S. 482.) — Wolff, L. H., et Jansen, J. P., Action de divers et antiseptiques sur le Bacteriophage d'Herelle. (Compt. rend. Soc. de Biol. T. 87. p. 1087.) — Prausnitz, C., Untersuchungen über den d'Herellschen Bakteriophagen. (Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. S. 187*—195*.) — Otto, R., u. Munter, H., Dtsch. med. Wochenschr. 1921. S. 1579. — Ders. u. Winkler, ebenda. 1922. S. 383. — Gildemeister, Weitere Untersuchungen über das d'Herellesche Phänomen. (Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. S. 181*—186*.) = Levaditi, C., et Nicolau, S., Propriétés physiques des ultravirus neurotropes. (Compt. rend. Soc. de Biol. T. 88. p. 66—69.)

Nachdruck verboten.

Das Verhalten eines inagglutinablen Flexner-Bakterium gegenüber Anti-Flexner-Bakteriophagen.

[Institut für Tropenmedizin in Leiden (Direktor Prof. P. C. Flu), Abt.: Laboratorium für Tropenhygiene.]

Von Prof. **P. C. Flu.**

Am 15. Okt. 1921 wurden aus den Fäzes eines an Sprue, Psilosis indica, leidenden Patienten auf Lackmus-Milchzuckeragar 2mal hintereinander Mikroorganismen isoliert, die bis auf die Agglutination, welche gegenüber dem Flexner-Serum negativ ausfiel, den Flexner-Bazillen ganz ähnlich waren.

Trotz der fehlenden Agglutination zeigten die Bazillen sich doch als echte Flexner-Bazillen, und zwar ist man zu dieser Diagnose auf Grund der folgenden Merkmale berechtigt:

a) Sie waren imstande, Agglutinine aus einer Verdünnung von hochwertigem, agglutinierenden Flexner-Serum zu binden. — b) Sie fixierten bei Gegenwart von Ambozeptoren gegen Flexner-Bazillen Komplement. — c) Kaninchen lieferten nach wiederholten intravenösen Injektionen mit dem inagglutinablen Flexner — im folgenden der Bequemlichkeit halber als Stamm K.B. bezeichnet — ein Immunserum, das zwar auf K.B. ohne Einfluß war, aber doch auf alle Flexner-Stämme meiner Sammlung, im ganzen 14, wirkte und sie alle bis zu einer Verdünnung von 1 : 7000 agglutinierte.

Der von mir isolierte Mikrobe war also ohne Zweifel ein echter Flexner-Bazillus, der aber auf eine nicht näher aufgeklärte Weise seine Agglutinabilität verloren hat.

Daß Bakterien ihre Agglutinabilität verlieren können, ist schon lange bekannt, aber immer zeigte es sich, daß die Bakterien, welche, frisch aus dem Körper gezüchtet, inagglutinabel erschienen, schon nach einigen Ueberimpfungen auf Schrägagar die Eigenschaft, agglutiniert zu werden,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wieder zurückerlangten. Mein Stamm K.B. ist aber selbst nach etwas mehr wie 300 Ueberimpfungen absolut inagglutinabel geblieben.

d'Herelle hat gezeigt, daß die sogenannten resistenten Formen, welche sich in Mischkulturen von Bakteriophagen und den betreffenden Bakterien in Bouillon bilden, charakterisiert sind durch den Verlust der Agglutinabilität. Während der Ausgangsstamm solcher Mikroben durch hochwertiges agglutinierendes Serum agglutiniert wird, zeigen sich die resistenten Abarten ganz refraktär.

Es war daher von Interesse, das Verhalten von K.B. hochvirulenten Bakteriophagen gegenüber zu prüfen:

Die benutzten Bakteriophagen wurden teils aus Pferde- und Hühnerfäzes, teils aus dem menschlichen Darm isoliert. Durch sukzessive Ueberimpfungen auf Flexner und nachfolgende Filtration waren die Bakteriophagen sehr aktiv gegen Flexner gemacht. Leicht trübe Suspensonen von Flexner-, Y- und Shiga-Kruse-Bazillen wurden durch den Bakteriophagen, der zu den nachfolgenden Versuchen dienen sollte, in der Verdünnung von 0,1 ccm Bakteriophagen auf 10 ccm Mikrobensuspension bereits nach 3-stünd. Verweilen bei 37° C ganz geklärt. Der gebrauchte Bakteriophage war selbst in Verdünnungen von $^{-10}$ noch wirksam.

Die Untersuchung zeigte, daß dieser kräftige Bakteriophage ganz ohne Einfluß auf den K.B. war. Er blieb nach 300 Ueberimpfungen, wie bereitz erwähnt, nicht nur inagglutinabel, sondern auch absolut resistent gegen die Wirkung für agglutinable Flexner-Stämme sehr aktiver Bakteriophagen.

Versuche, durch gleichzeitige Kultur von K.B. mit lysogenen Flexner-Stämmen die Virulenz des Bakteriophagen gegenüber dem K.B. auszulösen, hatten kein Resultat. Auch zeigte sich, daß der K.B. imstande ist, beim Wachstum in Bouillon, der Bakteriophagen zugesetzt waren, die Wirkung derselben aufzuheben.

Das Resultat des nachfolgenden Versuches, welcher verschiedene Male mit gleichem Resultate wiederholt wurde, illustriert dieses Verhalten des K.B.-Stammes:

3 Kölbchen, jedes mit 100 ccm Nährbouillon, wurden geimpft:

A. Mit 0,5 ccm stark gegen Flexner wirkender Bakteriophagen und 4 Oesen 18-stünd. K.B.-Kultur. — B. Mit 0,5 ccm desselben Bakteriophagen und 4 Oesen 18-stünd. Shiga-Kruse-Kultur. — C. Mit nur 0,5 ccm der Bakteriophagen.

Nachdem die Bakterienmasse in der Bouillon suspendirt ist, läßt man die Kolben, deren Inhalt vorher auf 37° C erwärmt war, bei dieser Temperatur stehen.

Sofort, nach $^1/_2$ Std. und nach 20 Std. werden aus jedem der Kolben 20 ccm auspipettiert und durch eine bakteriendichte Kerze filtriert. Von dem sterilen Filtrat kommen 0,5 ccm in 10 ccm Bouillon, welche mit soviel einer 13-stünd. Flexner-Kultur gemischt ist, daß eine Suspension von etwa 250000000 Keimen auf 1 ccm entsteht. Nach genauer Mischung werden 0,5 ccm der Flüssigkeit gleichmäßig auf einer Agarplatte verteilt, und zwar werden von jedem Kolben 5 Platten angelegt. Sowohl die Bouillonröhrchen wie auch die Agarplatten bleiben auf 20 Std. bei 37° C. Die Bouillon wird auf ihre eventuelle Lysis, die Platten auf „Inseln", „Taches vierges", untersucht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 1.

Kolben A Bakteriophagen und Bac. K.B.			Kolben B Bakteriophagen und Bac. Shiga			Kolben C Bakteriophag		
Filtrat	Zahl der Inseln	Bouillon	Filtrat	Zahl der Inseln	Bouillon	Filtrat	Zahl der Inseln	Bouillon
direkt	233 [1])	Lysis	direkt	303	Lysis	direkt	260	Lysis
1/2 Std.	142	„	1/2 Std.	106	„	1/2 Std.	328	„
1 „	293	„	1 „	2426	„	1 „	300	„
20 „	0	keine Lysis	20 „	∞	„	20 „	299	„

Die Zahlen dieser Tabelle zeigen deutlich, daß der Bakteriophage aus dem Kolben, in dem der K.B. gewachsen war, verschwunden ist. Diese Erscheinung könnte beruhen auf der Eigenschaft des K.B. zwar den Bakteriophagen zu binden, aber gegen die von ihm verursachte Lysis resistent zu sein, wodurch der Bakteriophage mit den abfiltrierten Bakterien auf dem Filter zurückbleibt.

Auch könnte durch den K.B. unter dem Einflusse der Bakteriophagenwirkung ein Antistoff, eine Art Antibakteriophag, sezerniert worden sein. Dieser Antibakteriophage könnte dann die lytische Wirkung des Bakteriophagen neutralisiert haben.

Um festzustellen, welche der beiden Möglichkeiten hier vorliegt, wurden folgende Versuche angestellt:

Von 3 Kolben, deren jeder 100 ccm Bouillon enthält, wird geimpft: A. Mit 18 Std. alten Shiga-Kruse-Bazillen und außerdem noch mit 0,5 ccm eines kräftigen Anti-Flexner. — B. Mit den 18 Std. alten K.B. und dazu noch 0,5 ccm desselben Bakteriophagen. — C. Mit 18 Std. alten K.B.-Bakterien, aber ohne Bakteriophagen.

Nach einem Aufenthalt von 24 Std. bei 37° C ist der Inhalt des Kolben A. ganz klar geworden, der des Kolbens B und C aber sehr trübe. Von dem Inhalt eines jeden Kolbens wird nun ein Teil durch Bakterienfilter, filtriert und vom sterilem Filtrat werden 0,5, 0,25, 0,1 und 0,05 ccm in Röhrchen mit 5 ccm Bouillon gebracht. In jedes dieser Röhrchen kommen außerdem noch 0,25 ccm sehr aktiver Bakteriophagen, wonach man die Röhrchen während 24 Std. bei 37° C stehen läßt.

War in den Filtraten ein Antibakteriophage enthalten, so hatte dieser während des Aufenthaltes im Brutschrank volle Gelegenheit, den Bakteriophagen zu neutralisieren.

Nach 24-stünd. Brutzeit bei 37° C wird dann jedes Röhrchen mit einer geringen Menge Flexner-Kultur infiziert und nach sorgfältiger Mischung werden etwa 0,5 ccm der Mischung auf Schrägagar genau ausgebreitet.

Die Bouillonröhrchen werden nach 1, 2, 3, 4, 5, 6 und 18 Std. auf eventuelle Lysis, die Agarröhrchen nach ebenso langer Zeit auf „Plages vierges“ untersucht.

Auf noch andere Art wurde untersucht, ob die nicht auftretende Lysis auf die Sekretion von Antibakteriophagen zurückzuführen war. Zu diesem Zweck wurde das Gemisch von Bouillon, 18-stünd. K.B.-Bakterien

1) Die Zahlen müssen noch mit 2400 multipliziert werden, um die in 1 ccm enthaltene Menge der „Bakteriophagen“ zu bekommen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 2.

Natur des Filtrats	Wieviel Filtrat kam zur Untersuchung?	Verhalten der Bouillon nach einem Aufenthalt bei 37° C während							
		1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	5 Std.	6 Std.	24 Std.	Inseln
Kolben A. Shiga	0,5 ccm	—	—	+	+	+	+	+	+[1]
+ Anti-Flexner-	0,25 „	—	—	—	—	+	+	+	+
Bakteriophage	0,1 „	—	—	—	—	—	+	+	+
Shiga	0,05 „	—	—	—	—	—	+	+	+
Kolben B. Stamm	0,5 ccm	—	—	—	—	+	+	+	+
K.B. + derselbe	0,25 „	—	—	—	—	+	+	+	+
Bakteriophage wie	0,1 „	—	—	—	—	—	—	+	+
in A	0,05 „	—	—	—	—	—	—	+	+
Kolben C. Stamm	0,5 ccm	—	—	—	—	—	—	+	+
K.B.	0,25 „	—	—	—	—	—	—	+	+
	0,1 „	—	—	—	—	—	—	+	+
	0,05 „	—	—	—	—	—	—	+	+

+ bedeutet Bouillon trübe, also keine Lysis; — bedeutet Lysis.

und Anti-Flexner-Bakteriophagen während 24 Std. bei 37° C bebrütet. Hiernach wurde die Kulturmasse während 1 Std. auf 58° C erwärmt. Von der erwärmten Flüssigkeit, in der wohl die Bakterien, nicht aber die Bakteriophagen unwirksam gemacht werden, macht man Verdünnungen, anfangend mit 10^{-1} und steigend bis 10^{-10} in Röhrchen, welche 10 ccm Bouillon enthalten. Die Bouillon wird nachher mit 18-stünd. Flexner geimpft und das Gemisch auf Agar ausgestrichen. Nach 24-stünd. Aufenthalt bei 37° C werden die Bouillonröhrchen auf Lysis, die Agarröhrchen auf „Inseln" untersucht.

Dieser verschiedene Male wiederholte Versuch hatte immer wieder das Resultat, daß die Bouillonröhrchen sich trübten und auf dem Agar sich keine Inseln zeigten.

Es hatten also alle angestellten Versuche, einen Antibakteriophagen zu demonstrieren, ein negatives Resultat. Sicher ist daher, daß kein kräftig wirkender Antibakteriophage, der als Ursache der Hemmung der Lysis betrachtet werden könnte, sezerniert wird. Höchstens kann man sagen, daß in Mischkulturen von Bouillon K.B. und Anti-Flexner-Bakteriophagen Stoffe vorkommen, welche zwar die Lysis nicht hemmen, wohl aber den Zeitpunkt ihres Zustandekommens verspäten.

Daß derartige Stoffe aber auch ohne Bakteriophagenwirkung sich aus Kulturen von K.B. bilden können, zeigt folgender Versuch:

Vom Filtrat einer 4-tägigen Kultur von K.B. werden Mengen von 0,5 ccm in Bouillon gebracht und diese alsdann mit einer Spur 18-stünd. Flexner-Bazillen infiziert:

			Resultat einer Beobachtung nach 24 Std.
5 ccm Bouillon	+ 3 ccm	Filtrat	Hemmung des Wachstums
5 „ „	+ 2 „	„	dgl.
5 „ „	+ 1 „	„	„
5 „ „	+ 0,5 „	„	„
5 „ „	+ 0,1 „	„	„
5 „ „	+ 0,05 „	„	„
5 „ „	ohne Filtrat		kräftiges Wachstum

Man war also wohl genötigt, die andere Möglichkeit, die der Bindung von Bakteriophagen durch K.B. als die Ursache der Unwirksamkeit des Bakteriophagen auf gut lysogene Flexner und Y-Bazillen zu betrachten.

1) Bedeutet auf die Agar „Inseln".

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

d'Herelle hat gezeigt, daß der Mikrobe, auf welchen ein Bakteriophage einwirken kann, den Bakteriophagen bindet, ehe die Lysis eintritt. Nach ihm dringen die Bakteriophagen in den Bakterienkörper ein und vermehren sich dort; sie werden erst nach dem Auseinanderfallen des Bakterienkörpers infolge der stattfindenden Lysis frei.

Aus meinen Versuchen muß ich den Schluß ziehen, daß auch der inagglutinable Flexner, wie ein agglutinabler das tun sollte, Bakteriophagen bindet, und zwar ganz analog dem Verhalten Agglutininen gegenüber, welche auch vom K.B. gebunden werden. Jedoch erfolgt genau so, wie nach der Agglutininbindung durch den K.B. keine Agglutination zustande kommt, auf die Bindung des Bakteriophagen keine Lysis von K.B.

Was passiert nun im Bakterienkörper mit dem gebundenen Bakteriophagen? Wird er nur einfach durch den K.B. fixiert und scheidet er auch wieder mehr oder weniger leicht vom Bakterienkörper oder wird er nach der Fixation durch den Bakterienkörper oder nach dem Eindringen in denselben zerstört? Ist endlich die Zerstörung des Bakteriophagen ein Vorgang, der mit dem Leben der Bakterie verbunden ist, oder ist er vom Bakterienleben unabhängig? Darf man die Zerstörung des Bakteriophagen durch den K.B. betrachten als das Resultat eines Sieges des resistenten Bakterienprotoplasmas nach einem Kampfe auf Leben und Tod mit dem Bakteriophagen?

Infiziert man 100 ccm Bouillon mit dem Stamme K.B. und mit 0,5 ccm eines stark wirkenden Anti-Flexner-Bakteriophagen, so ist nach 56 Std. bei 37° C die Bouillon sehr trübe und ein deutlicher Bodensatz hat sich gebildet. Schüttelt man dann die Kultur gut und verteilt sie in 4 Zentrifugenröhrchen von je 30 ccm Inhalt, so erhält man nach dem Zentrifugieren eine leicht trübe Flüssigkeit (I). Diese wird vom Bodensatz abgesogen und steril aufgehoben, während der Bodensatz noch 2mal mit sterilem Leitungswasser gewaschen und das Waschwasser nach jeder Waschung gesondert in einem sterilen Behälter aufgehoben wird (II u. III). Schließlich wird der Bodensatz in 10 ccm destillierten Wassers suspendiert und während 12 Std. im Schüttelapparat geschüttelt. Von den Flüssigkeiten I, II und III werden jedesmal 4, 3, 2 und 1 Tropfen in Bouillon gebracht, zusammen mit einer geringen Menge einer 28-stünd. Flexner-Kultur. Das Gemisch wird dann auf die oft beschriebene Art auf Bakteriophagen untersucht:

Tabelle 4.

Flüssigkeit I	Menge	Bouillon	Agar	Flüssigkeit II	Menge	Bouillon	Agar	Flüssigkeit III	Menge	Bouillon	Agar
	4 Tr.	—	—		4 Tr.	—	—		4 Tr	—	—
	3 „	—	+		3 „	—	—		3 „	—	—
	2 „	—	—		2 „	—	—		2 „	—	—
	1 „	—	—		1 „	—	—		1 „	—	—

— bedeutet keine Lysis, keine Inseln; + bedeutet Lysis oder Inseln.

Der Rest der Flüssigkeiten I, II und III wird mit 4 Oesen der 18-stünd. Flexner-Kultur infiziert und nach 24-stünd. Aufenthalt im Brutsschrank wieder auf Bakteriophagen untersucht. Die Flüssigkeit IV,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Schüttelextrakt der Mikroben, wird sofort durch ein Bakterienfilter filtriert.

Tabelle 5.

Menge des Filtrats mit Bouillon und 18-stünd. Flexner	Flüssigkeit I		Flüssigkeit II		Flüssigkeit III		Flüssigkeit IV	
	Bouillon	Agar	Bouillon	Agar	Bouillon	Agar	Bouillon	Agar
2 ccm + Bouill. + Flexn.	+	+	+	+	+	+	—	—
1,5 „ + „ + „	+	+	+	+	+	+	—	—
1,0 „ + „ + „	+	+	+	+	+	+	—	—
0,5 „ + „ + „	+	+	+	+	+	+	—	—
0,25 „ + „ + „	+	+	+	+	+	+	—	+(2)
0,1 „ + „ + „	+	+	+	+	+	+	—	+(1)
0,05 „ + „ + „	+	+	+	+	+	+	—	—

\+ bedeutet Bouillon klar, auf dem Agar „Inseln". Die Zahlen zwischen ( ) geben die Zahl der Inseln an; — bedeutet Bouillon trübe, auf dem Agar keine „Inseln".

Dieser Versuch zeigt, daß der Bakteriophag sehr fest durch das Bakterienprotoplasma gebunden wird. In Bouillon, in der K.B. neben Bakteriophagen gewachsen ist, bleiben nur Spuren des letzteren übrig und im Waschwasser der zentrifugierten und wiederholt gewaschenen Mikroben bleibt der Bakteriophag nur in so winzigen Spuren zurück, daß er nur nach Anreicherung aufzufinden ist.

Auch im destill. Wasser, in welchem durch das Schütteln eine große Menge von Mikroben der Hydrolyse anheimfällt, zeigen sich die Bakteriophagen in so geringen Mengen, daß ihr Vorkommen leicht durch noch an den gewaschenen Bakterien anhaftende Reste nicht gebundener Bakteriophagen erklärt werden kann. Keinenfalls bekommt man aber den Eindruck, als würde durch Mazeration der K.B.-Bakterien eine Loslösung des gebundenen Bakteriophagen vom Protoplasmakörper bewirkt.

Ein gleichartiger Versuch wurde mit getöteten K.B.-Bacillen angestellt. 5 Agarplatten (Diameter 8 cm) wurden mit K.B. beimpft. Nach 24-stünd. Wachstum bei 37° C wurde der Bakterienrasen in 0,9-proz. NaCl suspendiert. Durch 1-stünd. Erwärmen bei 65° C wurden die Bakterien getötet, was durch das Plattenverfahren kontrolliert wurde. Das Volumen der Suspension betrug etwa 40 ccm und durch Mischung mit einer gleichen Menge Bouillon wurde das Gemisch auf 80 ccm gebracht. Diese 80 ccm wurden mit $^1/_2$ ccm eines Bakteriophagen gemischt, welches noch in der Verdünnung 10^{-10} wirkt.

Nach 2mal 24-stünd. Verweilen bei 37° C wird zentrifugiert, die oberhalb des Zentrifugates stehende Flüssigkeit quantitativ auf das Vorkommen von Bakteriophagen untersucht und das 3mal gewaschene Zentrifugat bei 37° C getrocknet. Dann wird mit sterilem Sand die Bakterienmasse zerrieben und in 10 ccm Bouillon suspendiert. Hierauf wird diese Suspension während 1 Std. im Schüttelapparat geschüttelt und nachher durch Infusorienerde und Bakterienkerze filtriert und das Filtrat auf Bakteriophagen untersucht (s. Tab. 6, S. 380).

Schließlich wurde noch folgender Versuch angestellt:

100 ccm Nährbouillon werden mit 2 Oesen 18-stünd. Kultur von K.B. und $^1/_2$ ccm Bakteriophagen beimpft, der noch in der Verdünnung 10^{-10} wirksam ist. Nach 36-stünd. Verweilen bei 37° C wird zentrifugiert. Die oberhalb des Niederschlages stehende Flüssigkeit wird erst

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 6.

Untersuchung der Flüssigkeit über dem Bodensatz		Untersuchung der Flüssigkeit, erhalten nach Filtration der Suspension der zerriebenen Mikroben	
Untersuchte Menge	Bakteriophagen	Untersuchte Menge	Bakteriophagen
3 ccm	negativ	3 ccm	negativ
2 „	„	2 „	„
1 „	„	1 „	„
0,5 „	„	0,5 „	„
0,25 „	„	0,25 „	„
0,1 „	„	0,1 „	„
0,05 „	„	0,05 „	„

durch Infusorienerde und nachher durch eine Bakterienkerze filtriert (Flüssigkeit A).

Der Niederschlag wird 3mal gewaschen und mit der 3fachen Menge absolut wasserfreien Na_2SO_2 gemischt. Die trockene Masse wird im Achatmörser fein zerrieben, das feine Pulver in 40 ccm Bouillon gelöst; dann wird während $^1/_2$ Std. die trübe Flüssigkeit geschüttelt und nachher durch Infusorienerde und Kerze filtriert (Flüssigkeit A_1).

5 Agarplatten werden mit K.B. beimpft. Nach 18-stünd. Wachstum wird der Bakterienrasen in 25 ccm 0,9-proz. NaCl suspendiert. Durch Erwärmen dieser Suspension während 1 Std. auf 37 ° C werden dann die Bakterien abgetötet. Diese sterile Suspension wird dann mit 25 ccm Bouillon und 0,5 ccm desselben Bakteriophagen, der auch im oben beschriebenen Versuche zur Verwendung kam, gemischt. Das Gemisch wird dann während 36 Std. bei 37 ° C gehalten und nachher zentrifugiert, die Flüssigkeit oberhalb des Zentrifugates steril aufgehoben (Flüssigkeit B). Die zentrifugierten toten Bakterien werden genau wie die lebenden behandelt. Die Suspension des feinen Pulvers, das man nach dem Zerreiben des Bakterien-Na_2SO_2-Gemisches erhält, wird durch Infusorienerde und Kerze filtriert (Flüssigkeit B_1).

Von jeder dieser 4 Flüssigkeiten werden Verdünnungen von 10^{-1} bis 10^{-10} in Röhrchen gemacht, welche 10 ccm Bouillon enthalten. Außerdem kommen in 5 ccm Bouillon enthaltende Röhrchen Mengen von 0,5 1 und 2 ccm des Filtrates.

Tabelle 7.

Flüssigkeit A = Bouillon oberhalb der lebenden K.B.-Bazillen	Flüssigkeit B = Bouillon oberhalb der getöteten Bazillen	Flüssigkeit A_1 = Suspension der zerriebenen lebenden K.B.-Bazillen	Flüssigkeit B_1 = Suspension der zerriebenen getöteten K.B.-Bazillen
Verd. 10^{-2} wenige Pl.	Verd. 10^{-4} Plaques	Verd. 10^{-1} keine Pl.	Verd. 10^{-3} Plaques
„ 10^{-1} viele Pl.	„ 10^{-3-1} „		„ 10^{-2} „
„ 0,5 auf 5 ccm fast totaler Schwund der Rasen	„ 0,5 ccm auf 5 ccm steril	„ 0,5 ccm auf 5 ccm negativ [1])	„ 0,5 ccm auf 5 ccm steril
„ 1 ccm auf 5 ccm dgl.	„ 1 ccm auf 5 ccm steril	„ 1 ccm auf 5 ccm negativ	„ 1 ccm auf 5 ccm steril
„ 2 ccm auf 5 ccm dgl.	„ 2 ccm auf 5 ccm steril	„ 2 ccm auf 5 ccm negativ	„ 2 ccm auf 5 ccm steril

1) = Wachstum auf Agar.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Jedes Röhrchen wird dann mit soviel 18-stünd. Flexner-Kultur gemischt, daß eine leichte Trübung (etwa 250000000 Keime auf 1 ccm) der Bouillon) entsteht. Der Inhalt eines jeden Röhrchens wird auf Agar gestrichen und nach 24-stünd. Verweilen bei 37° C werden Agar und Bouillon auf die Bakteriophagen untersucht.

Die Resultate der oben beschriebenen Versuche bestätigen die schon am Anfange dieser Arbeit erwähnte Tatsache, daß der K.-B.-Stamm Flexner-Bakteriophagen elektiv bindet. Ferner zeigen sie auch, daß sowohl die getöteten als auch die lebenden K.B.-Bazillen diese Fähigkeit besitzen. Die Bindung ist so intensiv, daß es nur nach Zerstörung des Bakterienkörpers durch Na_2SO_4 gelingt, einen kleinen Teil der gebundenen Bakteriophagen vom Protoplasma der Bakterien zu trennen.

Eine andere merkwürdige Erscheinung war die, daß im Gegensatz zu den toten K.B.-Bazillen, welche einen Teil des von ihnen gebundenen Bakteriophagen abgeben, es unmöglich ist, die einmal durch lebende K.B.-Bazillen gebundenen Bakteriophagen von den Bakterien zu trennen. Dieses Resultat war, wie Wiederholungen des Versuches mir zeigten, konstant.

Berücksichtigt man die Tatsache, daß es technisch sehr schwer ist, die Bakterien vollkommen zu zerstören, so daß auch nach Destruktion mittels Na_2SO_4 immer noch die größere Zahl der Mikroben nicht zerstört wird, so ist es sicher, daß es bei Benutzung besserer Zerstörungsmittel, welche allerdings den Bakteriophagen nicht schädigen dürfen, gelingen würde, vielleicht die ganze Menge der durch die Bakterien gebundenen Bakteriophagen quantitativ wieder zu gewinnen.

Die Ergebnisse dieser Versuche stützen die Ansichten d'Herelles, daß das aktive lebende Protoplasma der Bakterien, und zwar hauptsächlich dasjenige der resistenten Keime, sich den Bakteriophagen gegenüber gewehrt hat, und zwar in analoger Weise, wie sich der Makroorganismus gegen die ihn infizierenden Bakterien verteidigt.

Der durch die Bakterien geführte Abwehrkampf führt bei resistenten Formen, wie den von mir untersuchten K.B., zur Zerstörung sonst kräftig wirkender Bakteriophagen.

Diese Tatsache spricht weder für, noch gegen die Ansicht d'Herelles, daß der Bakteriophage ein ultramikroskopisches Lebewesen ist.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über heterologe Präzipitation.

[Aus der Untersuchungs-Abteilung (Leiter Prof. Dr. Carl Prausnitz), des Hygienischen Instituts der Universität Breslau (Direktor: Geh.-Rat Prof. Dr. R. Peiffer).]

Von **Ilchun Yu,** Seoul (Korea).

Schon in den ersten Veröffentlichungen über Präzipitation wurde von einer gelegentlichen Durchbrechung der strengen Spezifität berichtet,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

indem ein präzipitierendes Antiserum nicht nur mit dem homologen Antigen sowie dessen nächsten Verwandten, sondern auch mit Serum gewisser anderer anscheinend nicht verwandter Tierarten Präzipitation ergab.

Uhlenhuth bezeichnete diesen Vorgang als „heterologe Trübung". In neuerer Zeit ist dieses Phänomen besonders von Friedberger und seinen Mitarbeitern Collier, Jarre und Meißner in umfangreichen Untersuchungen näher erforscht worden. Es zeigte sich, daß die bei manchen Seren auftretende heterologe Präzipitation keineswegs auf die nächstverwandten Tierarten beschränkt ist, was man nach den Nuttallschen Arbeiten zunächst erwartet hätte, sondern daß z. B. ein solches Antipferdeserum Menschen-, Esel-, Rinder-, Hirsch-, Ziegen-, Hammel-, Schweine-, Katzen-, Hunde- und Meerschweinchenserum präzipitieren kann, selbst wenn diese 200fach mit Kochsalzlösung verdünnt sind. Es mußte besonders auffallen, daß diese Erscheinung so unregelmäßig auftrat, indem manche Antisera streng spezifisch, andere wieder stark heterolog wirkten.

Zu ähnlichen Ergebnissen gelangte in Holland Reeser, der sogar gelegentlich die heterologe Präzipitation noch stärker fand, als die homologe. Im Gegensatz hierzu berichten Manteufel und Beger, daß sie die Erscheinung nur relativ selten gefunden haben; nach ihrer Meinung soll sie in der Regel durch zweckmäßige Behandlung der Kaninchen zu verhüten sein, insbesondere durch die Immunisierung mit einer kleinen Zahl rasch aufeinanderfolgender Injektionen. Nach ihnen soll eine zu lang ausgedehnte Behandlung der Kaninchen häufiger zur Entstehung der heterologen Präzipitation führen. Die von Friedberger und Jarre beobachtete Tatsache, daß solche Sera besonders im Winter gewonnen werden, wollen Manteufel und Beger durch die zu dieser Jahreszeit obwaltenden ungünstigen Futterverhältnisse erklären; hierdurch würde allgemein eine schlechte Antikörperbildung bedingt, man müsse also zur Erzielung hochwertiger Sera länger als sonst behandeln. Doch ist dem gegenüberzuhalten, daß Friedberger und seine Mitarbeiter schon durch 3- bis 4malige Injektion ihrer Kaninchen häufig stark heterolog wirksame Sera erhielten. Manteufel und Beger betonen ferner die Notwendigkeit, das Antigen möglichst frisch, frei von Zersetzungsprodukten irgendwelcher Art, den Tieren zu injizieren, doch scheint nach meinen Erfahrungen auch dies nicht sicher gegen das Auftreten heterologer Präzipitation zu schützen.

Analog wie bei den entsprechenden Erscheinungen der Agglutination steht man auch bei der heterologen Präzipitation vor der Frage, ob sie durch eine Mehrzahl von Präzipitinen bedingt ist, oder ob ein in sich einheitlich gebautes, aber je nach dem spendenden Individuum verschiedenes Präzipitin eine chemische Verwandtschaft zu den verschiedenen Antigenseren besitzt. Das sprunghaft wechselnde Verhalten der heterologen Präzipitation, wobei die für eine Tierart spezifischen Antisera bald mit diesem, bald mit jenem heterologen Tierserum flocken, schien von vornherein für eine Vielheit der Präzipitine zu sprechen.

Daß es unter günstigen Bedingungen gelingt, durch geeignete Absorption die eine Art von Präzipitinen aus einem nicht präzipitierenden Serum zu entfernen, wissen wir durch M. Ascoli. Er konnte aus einem vom Kaninchen gewonnenen Antipferdeserum z. B. durch Absättigung mit Pferdeserum-Pseudoglobulin die präzipitierende Wirksamkeit für diese Fraktion entfernen, während das Serum noch weiterhin die übrigen Eiweißfraktionen des Pferdeserums unvermindert ausflockte. Auf einer ähnlichen Idee hat ja auch Weichardt seinen Plan der Unterscheidung der Sera von verschiedenen Individuen der gleichen Art aufgebaut.

Friedberger und seine Mitarbeiter Collier und Jarre haben in anderer Weise versucht, das Ziel zu erreichen, indem sie das Serum mit gewissen tierischen Zellen, meistens Blutkörperchen, am häufigsten Hammelblutkörperchen, in Kontakt brachten und nach einer gewissen Zeit durch Zentrifugieren wieder trennten. Ursprünglich versetzten sie das heterolog präzipitierende Antiserum mit der gleichen Menge einer Kochsalzaufschwemmung von gewaschenen Hammelblutkörperchen; der Kontakt dauerte 24 Stunden bei Zimmertemperatur oder $^1/_2$ Std. bei 37°. Hierdurch gelang es ihnen — wenn auch keineswegs regelmäßig — die heterologen Präzipitine zu entfernen, während das homologe erhalten blieb. Allerdings beobachteten sie häufig auch eine erhebliche Abschwächung des letzteren, z. B. bei einem Antirinderserum auf $^1/_3$ des Ursprungswertes (Friedberger und Jarre). Sie lassen es untentschieden, ob die von Fall zu Fall beobachtete Verschiedenheit durch Aviditätsdifferenzen bedingt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

waren, oder ob es sich um gewisse Unterschiede in den Präzipitinen handelt, die von den einzelnen Individuen ein und derselben Tierart geliefert waren. Es sei jedoch bemerkt, daß Manteufel und Beger mit diesem Verfahren nicht zum Ziel gekommen sind. Der Vorteil dieser Absorptionsmethode besteht in der leichten und quantitativen Trennung der mit den Präzipitinen beladenen Blutkörperchen vom Antiserum; der Nachteil darin, daß die Blutkörperchen sich eben nicht immer so elektiv, wie man es wünscht, und manchmal überhaupt nicht, mit den heterologen Präzipitinen beladen. Friedberger und Meißner haben später anstelle der gewaschenen ungewaschene Hammelblutkörperchen verwendet und hierdurch ihr Ziel mit größerer Konstanz erreicht. Man darf wohl annehmen, daß die Absorption der heterologen Präzipitine durch Reste von Hammelserum bedingt ist, das an den Hammelblutkörperchen haftet; die bei Zusatz des Antiserums entstehenden heterologen Präzipitate würden dann von den roten Blutkörperchen adsorbiert. Bei der außerordentlichen Feinheit der Präzipitationsreaktion, die auch noch mit sehr starken Verdünnungen des Antigens eintritt, ist es denkbar, daß auch in den gewaschenen Hammelblutkörperchen noch geringe Reste von Hammelserum gehaftet haben, die unter Umständen zur Bindung der heterologen Präzipitine ausreichen würden. Diese Erklärung würde gut mit den besseren Resultaten bei der Verwendung ungewaschener Blutkörperchen übereinstimmen.

Nach der letzten Veröffentlichung von Friedberger und Meißner ist es überhaupt wahrscheinlich geworden, daß die heterologe Präzipitation von der homologen grundsätzlich verschieden ist, da sie finden, daß bei der ersteren die Flocken klein und dicht, bei letzteren größer und lockerer sind, während bei der Verwandtschaftsreaktion beide Typen nebeneinander vorkommen.

Die hier beschriebenen Erscheinungen sind sowohl von theoretischem Interesse, wie auch — mit Rücksicht auf die ausgedehnte forensische Verwendung der Präzipitation von großer praktischer Bedeutung. Auf Veranlassung von Herrn Geh.-Rat Pfeiffer, dem ich für die Anregung hierzu den ergebensten Dank aussprechen möchte, habe ich über die vorliegende Frage Untersuchungen angestellt, deren bisherige Ergebnisse nachstehend vorgelegt werden sollen.

a) Gewinnung der Sera.

Es wurden Antisera gegen Pferd, Rind, Schwein und Hammel durch Immunisieruug von Kaninchen gewonnen — 1 ccm Antigenserum in 2—4tägigen Abständen, 3—4mal intravenös; war dann noch kein hinreichend hoher Titer gegen das homologe Serum vorhanden, so spritzte ich in gleichen Zeitabständen noch 3—4mal je 1—2 ccm des gleichen Antigenserums subkutan. 9—10 Tage nach der letzten Injektion erfolgte die Entblutung. Da die Versuche im Dezember und Januar ausgeführt wurden, war nach den Befunden von Friedberger und Jarre die Aussicht auf ein stärkeres Uebergreifen der Antisera auf artfremde Tiere günstig. In gleicher Absicht erfolgte auch die in der Praxis der Herstellung solcher Sera sonst nicht übliche forcierte Behandlung der Tiere. Die Kaninchen waren im übrigen in normalem Futterzustande, 1500 bis 3000 g schwer; die Injektion wurde im allgemeinen gut vertragen. Die Antigene wurden zur Injektion frisch, höchstens eine Woche alt, verwendet. Die Versuche erfolgten innerhalb weniger Wochen nach Gewinnung der Antisera.

b) Prüfung der Sera.

Zur Auswertung wurde in kleinen Reagenzgläsern je 0,5 ccm fallender Verdünnungen des Antigens mit einem Tropfen des Antiserums unterschichtet, 2 Stunden bei 37° und über Nacht bei Zimmertemperatur gehalten; danach erfolgte die Ablesung im Agglutinoskop. Diese ausgedehnte Beobachtung geschah zum Zweck der möglichst deutlichen Dar-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stellung der feinsten Fällungen. Jede Reihe wurde zugleich mit Kochsalzkontrollen aller verwendeten Antigene und Antisera angesetzt.

Es gelang, 4 Antipferdesera und je ein Antirinder-, Antischweine- und Antihammelserum mit ausgesprochen heterologer Präzipitation zu gewinnen (vgl. Tabelle I).

Tabelle I (Titration der gewonnenen Antisera).

	1 Pferde-serum	2 Rinder-serum	3 Schweine-serum	4 Hammel-serum	5 Menschen-serum	Kontrolle
Antipferdeserum I	**128 000**	16 000	8 000	2 000	100 ±	—
„ II	**20 000**	—	—	—	80	—
„ III	**40 000**	10 ±	—	10 ±	1600	—
„ IV	**40 000**	—	—	100	800	—
Antirinderserum	10 000	**128 000**	8 000	2 000	100 ±	—
Antischweineserum	2 000	2 000	**32 000**	1 000	—	—
Antihammelserum	8 000	8 000	2 000	**64 000**	100 ±	—

Die Zahlen stellen die reziproken Werte der Titer-Endverdünnungen dar.

Wie hieraus ersichtlich, entstehen die heterologen Fällungen ohne jede Gesetzmäßigkeit. Daher ist auch die Vermutung wohl berechtigt, daß unübersehbare individuelle Unterschiede der verwendeten Tiere — sowohl der Antigenspender wie der Antiserumspender — im Spiele sind. Auch das spricht dafür, daß es sich hier nicht um den Ausdruck einer entfernten Verwandtschaftsreaktion im Sinne der „Mammalian reaction" von Nuttall handelt, sondern daß die heterologe Präzipitation auf dem Vorkommen von Nebenpräzipitinen neben dem homologen Hautpräzipitin beruht.

c) Absorptionsversuche.

Zur Entscheidung dieser Frage steht, wie oben gesagt wurde, das Absorptionsverfahren zur Verfügung, das ja bei den entsprechenden Verhältnissen der Agglutination im Castellanischen Versuch mit Erfolg ausgeführt wird.

Allerdings liegen die Bedingungen bei der Agglutination insofern günstiger, als die von den Bakterien gebundenen Agglutinine durch Abzentrifugierung leicht und fast restlos entfernt werden können; bei der Präzipitation scheint dagegen nach Eisenberg stets ein erheblicher Rest sowohl des Präzipitins wie des Antigenserums ungebunden zu bleiben, was für solche Untersuchungen natürlich recht ungünstig ist. Man wird daher beim Versuch, die Präzipitine zu absorbieren, stets damit rechnen müssen, daß eine solche Absorption unvollkommen verlaufen muß. Selbst unter Berücksichtigung dieses Umstandes schien es uns immerhin aussichtsreich, die Entfernung des heterologen Präzipitins durch Zusatz des betreffenden Antigens und nachheriges Abzentrifugieren der entstandenen Flocken zu erreichen. Entsprechend den Befunden der Tab. I erschienen für diese Versuche Antipferdeserum I und das Antirinderserum geeignet, die starkes Uebergreifen auf heterologe Sera zeigten; als Antigen dienten sowohl zur Absorption wie zur nachherigen Prüfung nur die Sera von Pferd, Rind, Schwein, Hammel.

Da es durch Castellani bekannt ist, daß die Entfernung heterologer Agglutinine am besten im verdünnten Serum gelingt, wurden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auch hier Kochsalzlösungverdünnungen 1 : 10 der Antisera und Antigene zur Absorption verwendet. 2 ccm Antiserumverdünnung wurden mit 1 ccm Antigenserumverdünnung gemischt, nach 2-stünd. Bebrütung bei 37 ° in der elektrischen Zentrifuge bei 3000 Touren abzentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit vorsichtig vom Bodensatz getrennt. Die Prüfung dieser Flüssigkeit erfolgte, wie oben beschrieben. Hieran schloß sich eine 2. und zuweilen eine 3. Ausfällung, wobei der Rest der klar zentrifugierten Flüssigkeit erneut mit 0,1 ccm des gleichen Antigenserums versetzt, 2 Std. bebrütet und wieder abzentrifugiert wurde. Das Ergebnis dieser Untersuchungen zeigen nachstehende Tab. II und III.

Tabelle II.

Antirinderserum abgesättigt mit den homologen und den heterologen Antigenseren.

Antirinderserum / Kontakt mit	Zahl der Absättigungen	Rinderserum Titer 128 000	Pferdeserum Titer 10 000	Schweineserum Titer 8000	Hammelserum Titer 2000	Kontrolle
Rinderserum	1	20 000 ±	1000 ±	1000 ±	1000 ±	—
„	2	10 000	1000 ±	100 ±	100 ±	—
„	3	.	.	.	.	.
Pferdeserum	1	20 000 ±	10	10 ±	100 ±	—
„	2	20 000 ±	—	—	100 ±	—
„	3	.	.	.	.	.
Schweineserum	1	10 000 ±	10	—	100 ±	—
„	2	1 000	—	—	100 ±	—
„	3	.	.	.	.	.
Hammelserum	1	20 000 ±	10	10	10	—
„	2	10 000	10 ±	10	10 ±	—
„	3	10 000	—	10 ±	—	—

Tabelle III.

Antipferdeserum abgesättigt mit dem homologen und den heterologen Antigenseren.

Antipferdeserum / Kontakt mit	Zahl der Absättigungen	Pferdeserum Titer 128 000	Rinderserum Titer 16 000	Schweineserum Titer 8000	Hammelserum Titer 2000	Kontrolle
Pferdeserum	1	10 000 ±	1000 ±	100	1000 ±	—
„	2	1 000	100	10	10	—
„	3	.	—	.	.	.
Rinderserum	1	20 000 ±	—	—	20 ±	—
„	2	20 000 ±	—	—	10	—
„	3	.	.	.	.	.
Schweineserum	1	40 000 ±	10 ±	—	10 ±	—
„	2	1 000	10 ±	—	10 ±	—
„	3	.	.	.	.	.
Hammelserum	1	40 000	10 ±	10 ±	10 ±	—
„	2	20 000 ±	10 ±	—	10 ±	—
„	3	1 000	10 ±	—	—	—

Aus dem Antirinderserum wurden schon durch einmalige Behandlung mit Schweine-, Pferde- oder Hammelserum sämtliche heterologen Präzipitine fast völlig entfernt. Bei wiederholter Absorption mit

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dem gleichen Antigen geht aber auch der Titer gegen das homologe (Rinder-)serum stark zurück, besonders in dem Falle der Absättigung mit Schweineserum. Auffälligerweise und im Gegensatz zu dem Verhalten im Castellanischen Versuch gelingt es durch Zusatz von Rinderserum zum Antirinderserum nur schwer und nicht restlos, die homologen sowie die heterologen Präzipitine zu beseitigen. Aehnliche Ergebnisse wurden beim Antipferdeserum erhoben: auch hier genügt einmaliger Kontakt mit Rinder-, Schweine- oder Hammelserum, um fast sämtliche heterologen Präzipitine zu entfernen; hierbei wird ebenfalls, und zwar besonders durch Absorption mit Schweine- sowie Hammelserum gleichzeitig der Titer der homologen Präzipitation beträchtlich herabgedrückt. Dagegen gelingt es selbst durch 2malige Behandlung mit Pferdeserum weder das homologe noch alle heterologen Präzipitine restlos zu entfernen.

Aus diesem Versuche folgt also, daß man aus Antiseren mit ausgesprochen heterolog präzipitierender Wirkung schon durch 1maligen Kontakt mit einem heterologen Antigen alle Arten von heterologen Präzipitinen zum großen Teil entfernen kann, während die Hauptmenge der homologen Präzipitine in der Regel erhalten bleibt. Das Ergebnis spricht daher für die Verschiedenheit der heterologen von den homologen Präzipitinen. Die angeführte Methodik erscheint auch praktisch brauchbar, um aus einem mehr oder minder stark heterolog übergreifenden Antiserum ein solches von strengerer Spezifität zu gewinnen.

Neben diesen Versuchen wurde in Anlehnung an die Technik Friedbergers und seiner Mitarbeiter auch die Wirkung der Absorption durch Blutkörperchen geprüft. In der ersten Versuchsreihe wurden die Antisera mit gewaschenen Blutkörperchen behandelt. Da die verwendeten Antisera zum Teil hämolytisch wirkten, wurden sie, 1 : 10 mit Kochsalzlösung verdünnt, zunächst durch 1-stünd. Erwärmen auf 56° inaktiviert. Je 1 ccm dieser Serumverdünnung wurde mit 0,1 ccm 3mal gewaschener Blutkörperchen versetzt und nach 2-stünd. Aufenthalte bei 37° durch Zentrifugieren von ihnen getrennt. Der Versuch wurde je 1mal mit Hammel- und mit Rinderblutkörperchen ausgeführt. Das Ergebnis zeigen nachstehende Tab. IV und V.

Tabelle IV.

Absättigung der Antisera mit **gewaschenen** Hammelblutkörperchen.

	Antipferdeserum		Antirinderserum		Antischweineserum		Antihammelserum	
Antigen	Anfangstiter	Kontakt mit H.K.[1])	Anfangstiter	Kontakt mit H. K.	Anfangstiter	Kontakt mit H. K.	Anfangstiter	Kontakt mit H. K.
Pferdeserum	128 000	**40 000** ±	10 000	1 000	2 000	1 000 ±	8 000	10
Rinderserum	16 000	—	128 000	**40 000**	2 000	100 ±	8 000	1 000 ±
Schweineserum	8 000	—	2 000	10	32 000	**20 000**	8 000	1 000 ±
Hammelserum	2 000	—	8 000	100 ±	1 000	100 ±	64 000	**10 000**

Durch 1malige Behandlung mit Hammelblut gelingt es daher nur aus dem Antipferdeserum alle Arten von heterologen Präzipitinen zu entfernen, während der Versuch bei dem Antirinder-, Antischweine- und Antihammelserum mißlang.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle V.

Absättigung der Antisera mit **gewaschenen** Rinderblutkörperchen

Antigen	Antipferdeserum		Antirinderserum		Antischweineserum		Antihammelserum	
	Anfangstiter	Kontakt mit R.K.[1]	Anfangstiter	Kontakt mit R. K.	Anfangstiter	Kontakt mit R. K.	Anfangstiter	Kontakt mit R. K.
Pferdeserum	128 000	**20 000**	10 000	1 000	2 000	—	8 000	1 000
Rinderserum	16 000	1 000	128 000	**40 000**	2 000	—	8 000	1 000
Schweineserum	8 000	1 000	2 000	1 000	32 000	**10 000**	8 000	100
Hammelserum	2 000	100	8 000	1 000	1 000	—	64 000	**20 000** ±

Durch entsprechende Behandlung mit Rinderblutkörperchen wurden dagegen nur aus dem Antischweineserum alle Arten von heterologen Präzipitinen beseitigt, nicht aber aus dem Antipferde-, Antirinder- und Antihammelserum.

Weiterhin wurde versucht, mit ungewaschenen Hammelblutkörperchen eine Entfernung der heterologen Präzipitine zu erzielen, und zwar wurden 2 ccm der betreffenden Antisera, um möglichst scharfe Resultate zu erzielen, mit 2 ccm defibrinierten Hammelblutes gemischt und nach 2 Std. Kontakt bei 37° abzentrifugiert. Dann wurde von der überstehenden Flüssigkeit ein Teil zur Bestimmung des Präzipitingehaltes verwendet, der Rest abermals mit gleichen Teilen defibrinierten Hammelblutes versetzt, nach 2-stünd. Kontakt zentrifugiert; die Behandlung wurde dann noch ein 3. Mal wiederholt. Das Ergebnis zeigen nachstehende Tab. VI und VII.

Tabelle VI.

Absättigung von Antihammelserum mit **ungewaschenen** Hammelblutkörperchen.

	Titer gegen			
	Pferdeserum	Rinderserum	Schweineserum	Hammelserum
Vor der Absättigung	8000	8000	2000	**64 000**
Nach der 1. „	—	10 ±	10 ±	40 000
„ „ 2. „	—	10 ±	10 ±	20 000 ±
„ „ 3. „	—	—	—	10 000

Tabelle VII.

Absättigung von Antipferdeserum mit **ungewaschenen** Hammelblutkörperchen.

	Titer gegen			
	Pferdeserum	Rinderserum	Schweineserum	Hammelserum
Vor der Absättigung	**128 000**	16 000	8000	8000
Nach der 1. „	80 000	1 000 ±	1000 ±	1000 ±
„ „ 2. „	80 000 ±	1 000 ±	1000 ±	1000 ±
„ „ 3. „	40 000 ±	1 000 ±	1000 ±	100

1) H. K. bedeutet: Hammelblutkörperchen, R. K. Rinderblutkörperchen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Demnach ist es in diesen Versuchen gelungen, durch Behandlung mit ungewaschenen Hammelblutkörperchen aus dem homologen Antihammelserum die heterologen Präzipitine zu entfernen, während die homologen unter Berücksichtigung der bei der Absättigung erfolgten Verdünnung des Serums nur wenig beeinträchtigt werden.

Mit diesem Verfahren gelang es mir aber nicht, durch ungewaschene Hammelblutkörperchen aus dem Antipferdeserum die heterologen Präzipitine gegen Rind, Schwein und Hammel glatt zu entfernen.

Grundsätzlich handelt es sich offenbar bei allen diesen Verfahren um verwandte Erscheinungen, nämlich die Bildung eines heterologen Präzipitats unter mehr oder weniger vollständiger Befreiung des Antiserums von seinen heterologen Präzipitinen. Weshalb diese Verfahren nicht immer zum Ziele führen, ist noch nicht mit Sicherheit festzustellen. Wahrscheinlich spielt hier die Reversibilität der Präzipitinreaktion eine gewisse Rolle; dazu kommen jedenfalls auch wechselnde, in ihrer Auswirkung schwer bestimmbare unspezifische Adsorptionen durch die entstehenden Niederschläge, bzw. die zur Ausfällung verwendeten zelligen Elemente.

Die Frage, ob es sich bei den heterologen Präzipitationen um prinzipiell andere Verhältnisse handelt als bei den homologen, ist auf Grund unserer heutigen Kenntnisse kaum zu entscheiden. Die Beobachtung von Friedberger und Meißner, daß die heterologen Präzipitine lockerer aussehen als die feinen, dichten Flocken der homologen Präzipitine, kann auch ich bestätigen. Weitere Untersuchungen, die ich wegen der Kürze der mir hier zur Verfügung stehenden Zeit noch nicht ausführen konnte, müssen erst eine Entscheidung über diese Frage bringen [1]).

Zusammenfassung.

1) An mehreren Antiseren wird das Vorkommen heterologer Präzipitinwirkung bestätigt.

2) In einem Teile der Fälle gelingt es, durch Absättigung der Antisera mit einem der heterologen Antigensera die heterologen Präzipitine zum großen Teil zu entfernen; doch geht hierbei meistens der Titer der homologen Präzipitine zurück.

3) Mit ungewaschenen Blutkörperchen können unter Umständen in ähnlicher Weise die heterologen Präzipitine entfernt werden; bei diesem Verfahren scheint nach den bisherigen beschränkten Erfahrungen der homologe Präzipitintiter nicht wesentlich zu leiden.

Es ist mir ein Bedürfnis, Herrn Prof. Dr. C. Prausnitz für die lebhafte Anregung und die freundliche Anleitung, die er diesen Untersuchungen entgegenbrachte, sowie für die stets in liebenswürdiger Weise erteilten Ratschläge meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

1) Erst nach Abschluß dieser Arbeit erschien die ausführliche Arbeit von Friedberger und Meißner (Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 36. 1923. H. 2/3.), auf deren wichtigen Inhalt hier noch nicht eingegangen werden konnte.

Generated on 2019-09-17 13:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Literatur.

Ascoli, München. med. Wochenschr. 1902. S. 1409. — Friedberger u. Collier, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 28. 1919. S. 237. — Ders. u. Jarre, ebenda. Bd. 30. 1920. S. 351. — Ders. u. Meißner, Diese Zeitschr. Abt. I. Ref. Bd. 73. 1922. S. 532. — Dies., Klin. Wochenschr. 1922. S. 1248. — Manteufel u. Beger, Ztschr. f. Immunitätsforschung. Bd. 33. 1922. S. 348. — Reeser, Mededeel. van de Rijksserum-inrechting. Aft. 2. Deel II. 1919; zitiert nach Manteufel und Beger. — Weichardt, Hyg. Rundsch. 1903. S. 756.

Nachdruck verboten.

Hefenährböden aus einem Hefepräparat der Fabrik Cenovis in München.

[Aus dem Physiologischen Institut der Universität Berlin (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. M. Rubner).]

Von Dr. **Stefania Lichtenstein.**

Infolge der anhaltenden überaus hohen Preise für Rind- und sogar für Pferdefleisch, ja selbst für Fleischextrakt ist es in höchstem Grade wünschenswert, für diese Grundstoffe bei der Nährbodenbereitung einen vollwertigen Ersatz zu finden. Nun ist in den Kriegsjahren aus den gleichen Gründen der Kostspieligkeit und noch mehr aus der Notwendigkeit, das knapp vorhandene Fleisch der Bevölkerung nicht zu entziehen, von verschiedenen Autoren Hefe als solcher Ersatz verwendet worden [Schönfeld, Will, Fischer, Bitter und Wagner (1), Guggenheimer (2), Gaßner (3), Reiter, Friedmann (5), Kreßler (6), Jötten (7)]. Im großen und ganzen konnte die Hefe, wenn auch mit gewissen Einschränkungen, zur Bereitung von Nährböden benutzt werden. Manche Hefepräparate lassen sich nicht einwandfrei verarbeiten: so ist ein klares Filtrat bei einfacher Filtration nicht zu erzielen (Hefetrockenpräparat von E. Merck). Hefeextrakte in mehr oder weniger konzentrierter Form liefern, wahrscheinlich infolge verschiedenartigen Ausgangsmaterials, Nährböden, die nicht immer die gleichen Eigenschaften aufweisen.

Die sehr verschiedenen Angaben über die Verwendbarkeit von Hefeextrakten erklären sich aus folgender Ueberlegung. Als Hefeextrakte kommen offenbar Produkte der verschiedensten Zusammensetzung in den Handel. Die Hefe enthält, wie alle Zellen, ihre besonderen Extraktivstoffe, daneben dann die Eiweißstoffe als eigentliche Träger des Lebensprozesses. Die normale Zusammensetzung hat die Hefe nur, wenn sie im gärenden Zustande sich befindet; jede Unterbrechung der Gärung führt bei Zuckermangel sofort zur Autolyse, d. h. zum Zerfall des Eiweißes.

Eine völlige Uebereinstimmung eines Hefeextraktes und Fleischextraktes könnte nur physiologisch gegeben sein, wenn bei der Herstellung des Hefeextraktes keine Autolyse stattgefunden hat. Rein aus technischen Gründen wird diese Bedingung selten eingehalten sein. Somit werden sich den eigentlichen Extraktivstoffen auch noch die Produkte der Autolyse beimengen, d. h. es werden peptonartige Stücke und Amino-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

säuren sich finden. Es ist bekannt, daß aus ihnen in kürzester Zeit wieder Eiweiß aufgebaut werden kann; bei autolysierter Hefe findet man schon in einer Stunde Gärung den größten Teil des Hefeeiweißes wieder aufgebaut.

Daraus folgt, daß es möglich ist, die Hefeextrakte so herzustellen, daß sie beliebige Mischungen von Extraktivstoffen und Spaltprodukten des Eiweißes enthalten, bakteriologisch gesagt, also sowohl als Ersatz von Fleischextrakt wie Pepton dienen können. Je nach der Art einer Mischung werden sie also mehr oder minder für bakteriologische Zwecke sich günstig erweisen. Die Beimengung autolytischer Produkte wird den Ersatz von Pepton ausgleichen, d. h. für das Wachstum der Bakterien sich ganz besonders brauchbar erweisen.

Ein weiterer wichtiger Umstand, weshalb ein vollwertiger Ersatz bei der Herstellung der Nährböden erwünscht wäre, ist das immer mehr sich geltend machende Bedürfnis, das enorm teure Pepton entbehren zu können. Das Hefetrockenpräparat von E. Merck in Darmstadt kann nach den Angaben von Reiter, wie dies auch von Friedmann bestätigt wird, auch ohne Peptonzusatz verwendet werden. Aber die mangelnde Filtrierbarkeit und das Fehlen der hemmenden Eigenschaften gegenüber dem B. coli in der Malachitgrünplatte schränken seine Brauchbarkeit ein. In der letzten Zeit hatte ich Gelegenheit, ein Hefepräparat zu prüfen, das von der Fabrik Cenovis (München) in den Handel gebracht wird und mit einer Vorschrift von Dr. Mandelbaum für die Herstellung von Nährböden versehen ist. Die Bereitung ist die denkbar einfachste. Das feine gelbliche Pulver wird mit einer entsprechenden Menge Wasser (kein Pepton und Kochsalzzusatz), in dem es sich restlos löst, versetzt, gut durchgeschüttelt, etwa $^1/_2$ Std. bei Zimmertemp. stehen gelassen und darauf im Dampftopf 2 Std. lang gehalten. Sodann wird mit Sodalösung neutralisiert, wiederum 1 Std. im Dampfe sterilisiert und filtriert. Das Filtrat ist eine völlig klare, goldgelbe Flüssigkeit. Für die Bereitung von Agar, Gelatine und anderen Nährböden werden Agar, Gelatine und sonstige Zusätze hinzugefügt. Der mit dem Cenovispräparat hergestellte Nährboden (flüssig oder in fester Form) hat sich bei der Prüfung als vollwertiger Ersatz für die Fleisch- und Fleischextraktnährböden erwiesen. Er besitzt die Eigenschaften eines ausgezeichneten Nährbodens, auf dem auch nicht leicht züchtbare Bakterien gut wachsen. Zellulosebakterien, die auf gewöhnlichem Nähragar gar nicht zum Wachstum gebracht werden konnten, bildeten auf dem Cenovisagar einen recht üppigen Kulturrasen. Diphtheriebakterien gedeihen auf dem Cenovisagar nicht schlechter als auf Glyzerinagar.

Bei der Prüfung des Cenovisnährbodens für die Typhus-Coli-Gruppe konnte festgestellt werden, daß dieses Hefepräparat auch für die Herstellung des Malachitgrünagars sich gut eignet. Die Agglutinierbarkeit der auf Cenovisagar gezüchteten Bakterien bleibt erhalten.

Alles in allem ist das Cenovispräparat als ein vollwertiger Ersatz für Fleisch plus Pepton anzusehen und als solches für die Nährbodenbereitung gut zu verwenden [1]).

Ein Hefenährboden, der aus Hefeextrakt und Hefepepton besteht und dem Cenovisnährboden ähnlich zu sein scheint [2]), ist von Kister

1) Zu denselben günstigen Resultaten ist M. Brandl (8) gekommen. Seine Abhandlung ist mir erst nach Abfassung des vorliegenden Berichtes bekannt geworden.

2) Das Präparat stand mir nicht zur Verfügung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

(9) angegeben worden. Die beiden Substanzen (Hefeextrakt und Hefepepton) kommen mit Kochsalz gemischt in trockener Form in vorgeschriebenen Mengen zur Verwendung.

Literaturverzeichnis.

1) Fischer, Bitter u. Wagner, München. med. Wochenschr. 1915. S. 77. — 2) Guggenheimer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1916. S. 363. — 3) Gaßner, ebenda. Abt. I. Bd. 79. — 4) Reiter, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. S. 917. — 5) Friedmann, München. med. Wochenschr. 1918. — 6) Kreßler, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. — 7) Jötten, Arb. a. d. Reichsgesundheitsamte. Bd. 52. 1920. H. 2. — 8) Brandl, München. med. Wochenschr. 1921. Nr. 5. — 9) Kister, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. 1923.

Nachdruck verboten.

Eine neue Methode zur Bemessung des Bakterizidietiters[1]).

[Aus dem Hygienisch-Bakteriologischen Institut der med. Akademie zu Osaka, Japan.]

Von Prof. Dr. **Y. Fukuhara.**

1.

Unter dem Ausdrucke „Bakterizidie“ verstehen wir nur eine bakterienabtötende, bzw. entwicklungshemmende Wirkung irgendeines antibakteriellen Serums in vitro, denn die antibakterielle Wirkung der Serumsubstanz in vivo ist keine rein bakterizide. Unserer Auffassung nach sind die Bakterizidine also Antikörper, die im antiinfektiösen Serum vorhanden und im Reagenzglasversuch unter Mitwirkung des Komplementes wirksam sind. Und neben dem antiinfektiösen Versuch in vivo kann man auch die Bakterizidieversuche in vitro zum quantitativen Nachweis der bakteriziden Antikörper heranziehen.

Wenn auch kein Parallelismus zwischen den Resultaten der Reagenzglasversuche und der Tierversuche besteht, ist es doch sehr wünschenswert, die methodischen Schwierigkeiten bei den Reagenzglasversuchen zu überwinden und den Bakterizidieantikörper als einen beständigen Stoff in vitro zu studieren.

Bei bakteriziden Versuchen in vitro hat man es mit 3 verschiedenen Komponenten zu tun, nämlich mit dem Bakterizidieantikörper, dem Komplement und den Bakterien. Diese 3 Komponenten sind in ihrer Veränderlichkeit schon seit langem genugsam bekannt. Für die Feststellung des bakteriziden Titers ist vor allem die individuelle Verschiedenheit der Tiere, welche das Komplementserum liefern, von Einfluß.

Wie schon von anderen Autoren empfohlen, haben wir diese Schwierigkeit durch Benutzung eines gemischten Komplementserums zu umgehen versucht. Ganz gleichmäßige Resultate bekommt man aber auch dann nicht. Es ergibt sich aus unseren Untersuchungen, daß der Titer des aktiven Serums bei Mischung des Serums verschiedener Tiere bald ge-

---

1) Die Choleraversuche wurden durch Dr. Uëno und die Typhusversuche durch Dr. Ninomiya und mich ausgeführt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ringeren, bald höheren bakteriziden Wert, also größere Schwankungen, zeigt.

Der Virulenztiter der Bazillen ist sehr variabel, je nach der Art der Stämme und der Art der Züchtungsweise. Daß die virulenten Bakterien der spezifischen Abtötung im Reagenzglase bedeutend mehr Widerstand entgegensetzen als avirulente, ist auch bekannt. Selbst bei der Anwendung eines und desselben Komplementserums ist es unmöglich, bei Versuchen mit verschiedenen Bakterienstämmen vergleichbare Resultate zu erhalten.

2. Standardserum.

Unsere frühere Arbeit[1]) „Zur Bemessung des Hämolysintiters" hat gezeigt, daß die alte übliche Bestimmungsmethode eine sehr unsichere ist. Auf Grund unserer Versuche wählten wir ein Standardserum als Träger der Hämolyseeinheit zur Bestimmung. Nun ist es auch dringend wichtig, den bei der Methodik der bakteriziden Reagenzglasversuche vorhandenen Schwierigkeiten, welche hauptsächlich auf die schwankenden Eigenschaften der benutzten Kulturstämme und Komplementsera zurückzuführen sind, dadurch aus dem Wege zu gehen, daß man jedesmal ein Standardserum mitbenutzt. Hierzu dient die Bakterizidineinheit. Als „Bakterzidineinheit" bezeichnen wir diejenige Menge Antiserum, welche eine gewisse Menge der Bakterien mit einer ausreichenden Menge von Komplementserum so stark abtötet, daß eine deutlich geringere Koloniebildung auf der Agarplatte eintritt, als auf der zur Komplementkontrolle gehörigen Platte.

Die ursprüngliche Einheitsbemessung unseres bakteriziden Urcholerastandardserums wurde in üblicher Weise ausgeführt. Die Einheit ist natürlich eine willkürlich gewählte Größe. Zu gewissen Strichmengen Bazillen von einem im Anfang unserer Arbeit zur Verfügung stehenden Stamm „Cp" (Virulenz 1 : 50 Strichmenge des Bakteriometers Fukuharas) wurden abgestufte Mengen unseres antiinfektiösen Standardcholeraserums[2]) (No. 246. Antiinfektiöse Einheiten = 763) und gewisse Mengen Komplementserum vom Kaninchen zugesetzt.

Zur Technik unserer Versuche ist folgendes zu bemerken:

1) Zur Bestimmung der Bakterienmenge verwandten wir ein Zentrifugenröhrchen (Bakteriometer Fukuharas). Die Kapillare des Röhrchens ist unten zugeschmolzen; eine eingeteilte Skala gestattet die Ablesung des Sedimentvolumens.

2) die Reihenfolge, in der die 3 Teile (Bakterien, Immunserum und Komplementserum) zueinander getan werden, haben wir stets folgendermaßen innegehalten: 1 ccm verschiedener Verdünnungen des inaktiven Immunserums, 0,5 ccm einer Bakterienaufschwemmung und 0,5 ccm einer Komplementverdünnung (1 : 10).

Die Abmessungen müssen derart sein, daß in allen Röhrchen gleiche Mengen Flüssigkeit (2 ccm) vorhanden sind. Die Verdünnungen und die Auffüllungen erfolgen mit 0,85-proz. NaCl-Lösung, abgesehen davon, daß die Bakterien aus Agarkultur zuerst mit Nährbouillon aufgeschwemmt werden. Die Bakterienklümpchen aus der geschüttelten Aufschwemmung können durch Filtration mittels sterilen Filtrierpapieres zurückgehalten werden.

3) Umfangreiche Kontrollen sind stets notwendig, um die verwandten Sera usw. auf Sterilität zu prüfen. Die Röhrchen werden bei Cholera 3 Std., bei Typhus 4 bis 5 Std. im Brutschranke bei 37° C gehalten und schließlich zu Agarplatten verarbeitet. Die fertigen Agarplatten kommen dann in den Brutschrank und werden nach 24 Std.

---

1) Y. Fukuhara, Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 34. 1922.

2) Vgl. meine früheren Arbeiten (The Journal of Immunol. Vol. 4. 1919. u. Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921.)

Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

gezählt. Die Zählung wird je nach der Anzahl der Kolonien mit der Lupe oder dem bloßen Auge ausgeführt. In gleicher Weise werden 2 Kontrollplatten gegossen, für die nur 0,5 ccm der Bakterienaufschwemmung verwandt wird, und die auf 2 ccm mit physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt und sofort, d. h. ohne vorherige Bebrütung, verarbeitet werden. Endlich noch eine Kontrollplatte, für die 0,5 ccm Bakterienaufschwemmung, 1,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung und 0,5 ccm Komplementserum verwandt wird. Die letzten werden gleichfalls in den Brutschrank gestellt.

4) Bei derartigen Bakterizidieversuchen spielt die Menge der Einsaat eine Rolle. Auf Grund unserer Erfahrung verwandten wir etwa 0,0001 Strichmenge einer 1-täg. Bouillonkultur des Typhusbazillus, während bei Cholerabazillen durch 0,005[1]) Strichmenge einer 20-stünd. Agarkultur ein guter Erfolg erzielt wurde.

In der folgenden Tab. 1a ist die Serummenge, die eben maximale bakterizide Wirkung entfaltet, 1 : 50 000. In der Tab. 1b liegt der Titer zwischen 1 : 40 000 und 1 : 50 000 bei der 0,02 ccm-Komplementdosis. Bei der 0,03 ccm-Komplementdosis ist die Zone des Neißer-Wechs-

Tabelle 1.

Die Wertbestimmung des bakterziden Cholera-Urstandardserums.

a)

Serumverdünnung	Koloniezahl
	Komplement 0,02
1 : 500	viele Tausende
1 : 5 000	763
1 : 50 000	213
1 : 500 000	2850
1 : 5 000 000	viele Hundert
1 : 50 000 000	viele Tausendtausend
1 : 500 000 000	dgl.

Aussaat: viele Tausende.
Komplementkontrolle: viele Tausende.

b)

Serumverdünnung	Koloniezahl	
	Komplement 0,02	0,03
1 : 5000	34	1
1 : 10 000	11	4
1 : 20 000	52	0
1 : 40 000	18	0
1 : 50 000	289	0
1 . 100 000	880	0
1 : 200 000	viele Zehntausend	14
1 : 400 000	dgl.	31
1 : 500 000	dgl.	56

Aussaat: viele Tausendtausend.
Komplementkontrolle: viele Zehntausend 1190

c)

Serumverdünnung	Koloniezahl
	Komplement 0,025
1 : 5 000	44
1 : 12 500	2
1 : 25 000	10
1 : 27 500	8
1 : 30 000	5
1 : 32 500	6
1 : 35 000	5
1 : 37 000	4
1 : 37 000	8
1 : 38 000	3
1 : 39 000	0
1 : 40 000	6
1 : 41 000	6
1 : 42 000	8

Serumverdünnung	Koloniezahl
	Komplement 0,025
1 : 43 000	24
1 : 44 000	28
1 : 45 000	132
1 : 46 000	112
1 : 47 000	145
1 : 48 000	162
1 : 49 000	112
1 : 50 000	298
1 : 55 000	356
1 : 60 000	viele Zehntausende
1 : 65 000	viele Hunderttausende

Aussaat: viele Tausendtausende.
Komplementkontrolle: viele Zehntausende.

1) ca. $^2/_3$ Milligramm der Bazillen entsprechen einem Strich des Bakteriometers. 1,0 ccm 1-täg. Cholerabouillonkultur entspricht durchschnittlich 2 Strichmengen des Bakteriometers.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bergschen Phänomens zu eng geworden. Wir haben nun die letzten entscheidenden Bestimmungsversuche mit der mittleren Komplementdosis desselben Titers (0,025) angestellt und festgestellt, daß der bakterizide Titer des Standardserums 1:42 000 (oder 42 000 B.C.E.) ist.

3. Die Ausführung der Serumbestimmung.

Das Standardserum ist schon hergestellt. Nun haben wir uns zur Bestimmung des bakteriziden Wertes gerüstet. Zur Ausführung der Prüfungsversuche muß man die Versuchsreihen ein für allemal unter gleichzeitiger Kontrolle des Standardserums ansetzen.

Durch mehrmals angestellte Versuche machten wir die Erfahrung, daß die zu verschiedener Zeit entnommenen Komplementsera ein und desselben Tieres sich ziemlich gleich verhielten. Die Gefahr unkonstanter Ausschläge, welche durch die individuellen Schwankungen des Komplementtiters veranlaßt wird, kann also dadurch überwunden werden, daß man durch einen Vorversuch mittels des Standardserums jedesmal den ungefähren Komplementtiter desjenigen Tieres sucht, welches als Komplementlieferant beim Hauptversuche zur Verfügung steht.

Was die Bazillenstämme anlangt, so kann man ruhig jeden beliebigen verwenden. Bezüglich der Gebrauchsdosis der Bakterien ist nur darauf Rücksicht zu nehmen, daß diese Menge die für die Koloniezählung auf der Agarplatte passende Menge nicht überschreitet. Es ist natürlich zu erwarten, daß bei virulenter Bakterienaufschwemmung zur Abtötung der Keime mehr Komplementserum benötigt wird, als es beim Vergleich mit weniger virulenten Suspensionen erforderlich wäre. Aber die kleinen Differenzen der Bakterizidieerscheinung, welche durch die Virulenzunterschiede der Bakterien verursacht werden, werden durch die Abstufung der Komplementmenge schon ausgeglichen. Infolgedessen spielen die Virulenzunterschiede der Bakterien für die Beurteilung bei der Bakterizidie in dem Hauptversuche keine Rolle.

Aus dem folgenden Vorversuche (Tab. 2) ersieht man, daß die Titerdosis des Komplementes vom Kaninchen Nr. 12 für die Bakterizidieeinheit 0,02 ist. Mit Rücksicht auf die täglichen, nicht großen Schwankungen wird die Arbeitsmenge des Komplementserums desselben Tieres beim Hauptversuch vielleicht die zwischen 0,03 und 0,015 (die mittlere Dosis 0,02) abgestufte sein. Wenn der Vorversuch nicht angesetzt worden wäre, so müßte man beim Hauptversuch zu weit abgestufte Komplementmengen (z. B. 0,07—0,01) anwenden, denn man hat keinen Anhalt dafür, wie stark der Komplementtiter eines zur Verfügung stehenden Tieres ist.

Was den eigentlichen Hauptversuch betrifft, so verfahren wir in folgender Weise:

Es werden 2 Prüfungsreihen parallel angesetzt, eine mit Standardserum und eine 2. mit dem zu prüfenden Bakterizidinserum. Die Standardserumreihe gibt an, welche Komplementdosis die eingesäten Bazillen am stärksten abtötet, und die 2. Reihe mit verschiedenen Verdünnungen des zu prüfenden Serums gestattet im Vergleich mit der 1. einen genauen Rückschluß auf den Wert des betreffenden Serums.

Hierzu sind mehrere Reihen Reagenzgläser erforderlich. In die Gläser der Standardreihe kommt je 1 B.C.E. Standardserum, in die-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 2.

Orientierungsversuch des Komplementtiters mittels des Cholera-standardserums.

Cholerabazillen: Stamm Cp, Komplementkaninchen Nr. 5.

Bakterienmenge	Standardserum	Komplement	Koloniezahl
0,005 Str.	1 B.C.E.	0,04	0
„	„	0,035	0
„	„	0,03	1
„	„	0,025	0
„	„	0,02	2
„	„	0,015	48
„	„	0,01	150

selben der anderen Reihen je 1 ccm der von dem zu prüfenden Serum hergestellten Verdünnungen. Das zu prüfende Serum wird mit physiol. Kochsalzlösung verdünnt, und zwar anfangs meist nur 1:100, 1:1000 usw. bis höchstens 1:1 Million. Man geht dann später dazu über, zwischen den Verdünnungen noch Zwischenstufen 1:50, 1:500 usw. einzuschalten.

Zu jeder Reihe gibt man gleiche Mengen der Bakterienaufschwemmung (z. B. 0,005 Str. an der Tab. 3) und dann gleichmäßig abgestufte Komplementmengen. Die Resultate des Vorversuches berücksichtigend, werden die Komplementabstufungen so gewählt, daß damit voraussichtlich alle Werte von einer sehr schwachen bis zur stärksten bakteriziden Wirkung getroffen sind. Dann werden die Gemische mit Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt. Uebliche Kontrollröhrchen dürfen natürlich nicht fehlen. Nach der Digestion bei 37° C wird jedes Röhrchen zu einer Agarplatte verarbeitet.

Tabelle 3a.

Choleraserum A. Cholerabazillen: Stamm Cp.
Bakterienmenge: 0,005 Str. Komplementkaninchen: Nr. 11.

Serummenge in Kubikzentimeter	Komplement	Koloniezahl
1:2000	0,03	5
„	0,025	9
„	0,02	45
„	0,015	160
„	0,01	630
1:3000	0,03	3
„	0,025	46
„	0,02	75
„	0,015	260
„	0,01	viel Tausend
1:4000	0,03	25
„	0,025	53
„	0,02	72
„	0,015	410
„	0,01	viele Tausende
Standardreihe 1 B.C.E.	0,03	1
„	0,025	0
„	0,02	49
„	0,015	230
„	0,01	420

Die 1. Reihe in obiger Tabelle war mit 1,0 ccm einer Serumverdünnung 1:2000 beschickt, die 2. mit 1,0 ccm einer Verdünnung 1:3000, die 3. mit 1,0 ccm einer Verdünnung von 1:4000 und schließlich die Standardreihe mit einer Einheit des Standardserums.

Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Da je nach den Komplementdosen bei jeder Reihe alle Stufen von Komplementwirkung vorhanden sind, so können wir bei allen Versuchsreihen alle Phasen, eine stärkere Bakterizidie, eine etwas schwächere und eine maximale (wenigstens in der Standardreihe) verfolgen.

Hat irgendeine Verdünnung des zu prüfenden Serums eben einen B. C. E., so müssen die Resultate, d. h. die Kolonieentwicklung in dieser Verdünnungsreihe mit derselben in der Standardreihe fast genau zusammenfallen (z. B. Reihe mit der Verdünnung 1 : 2000 in der Tab. 3).

Tabelle 3b.

Serummenge in Kubikzentimeter	Komplement	Kolonie-zahl	Serummenge in Kubikzentimeter	Komplement	Kolonie-zahl
1 : 2000	0,03	0	1 : 2800	0,03	0
„	0,025	0	„	0,025	0
„	0,02	0	„	0,02	0
„	0,015	0	„	0,015	0
„	0,01	14	„	0,01	64
1 : 2200	0,03	0	1 : 3000	0,03	0
„	0,025	0	„	0,025	0
„	0,02	0	„	0,02	1
„	0,015	0	„	0,015	24
„	0,01	22	„	0,01	57
1 : 2500	0,03	0	Standardreihe		
„	0,025	0	1 B. C. E.	0,03	0
„	0,02	0	„	0,025	0
„	0,015	0	„	0,02	0
„	0,01	15	„	0,015	2
			„	0,01	78

Wenn eine Verdünnung noch schwächer ist, nämlich 1 ccm dieser Verdünnung weniger als 1 B. C. E. enthält, so tritt eine entsprechende Verschiebung der Resultate ein, aus der man leicht ersehen kann, daß die betreffende Verdünnung hinter einer Einheit zurückbleibt. Die Tab. 3 zeigt einen in dieser Weise ausgeführten Prüfungsversuch. Es handelt sich um die Bewertung eines Cholerapferdeserums („A“).

Wenn man die Resultate der Tab. 3a vergleicht, so ersieht man, daß die Titerdosis des Komplementes in der Standardserumreihe 0,025 ist. Unter den anderen Reihen stimmt nur das Resultat der Reihe 1 (1 : 2000 Serumverdünnung) mit dem in der Standardreihe überein. Da 1 : 2000 ccm des Serums „A“ mit 0,025 Komplement die zugesetzten Bazillen so stark wie eine Standardeinheit abtötet und 1 : 3000 ccm desselben keine starke Bakterizidie entfaltet, muß das Serum „A“ in 1 ccm beinahe 2000 B. C. E., aber weniger als 3000 enthalten. Nach dem Ausfall der Versuche in der Tab. 3b ist das Choleraserum „A“ als ca. 2800-fach anzunehmen. Die noch genauere Bestimmung erfolgt natürlich durch weitere Versuche.

Wegen Raumersparnis wurden die Protokolle der mit Typhusbazillen ausgeführten Versuche ausgelassen. Es ist nur zu bemerken, daß in den mit Typhusbazillen angestellten Versuchen die Grenze der wirksamen und nicht mehr wirksamen Serumdosen nicht so scharf in die Erscheinung tritt, wie in dem Choleraversuch.

Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Aus Tab. 4 ist auch hervorzuheben, daß nach unserer Methode sich bei der Prüfung ein und desselben Serums bei 2 Cholerastämmen mit weit verschiedener Virulenz fast gleiche Titerhöhe (1 : 3000) feststellen läßt.

Tabelle 4.

Bazillenmenge: 0,005 Str.
Komplementlieferant: Kaninchen Nr. 6.
Bakterienstamm: „Cp" und „Kawa".
Die let. Dosis an Meerschweinchen: { „Cp" 0,01 Str. / „Kawa" 6,0.
Serum: Choleraserum „A".

Serummenge	Komplement	Koloniezahl	
		Cp	Kawa
1:2000	0,02	0	0
„	0,015	0	6
„	0,01	14	97
1:2000	0,02	2	1
„	0,015	3	1
„	0,01	22	103
1:2500	0,02	0	0
„	0,015	0	5
„	0,01	15	125
1:2800	0,02	0	1
„	0,015	0	0
„	0,01	64	92
1:3000	0,02	1	0
„	0,015	24	115
„	0,01	57	106
Standardreihe 1 B.C.E.	0,02	0	1
„	0,015	2	2
„	0,01	78	85

Wegen der Raumersparnis werden einige Teile des Protokolls ausgelassen.

Bei dem in Tab. 5 aufgeführten Versuch gebrauchten wir einen Cholerastamm (Cp) und 2 Komplementsera. Die Sera wurden von verschiedenen Kaninchen (Nr. 6 und 16) geliefert. Aus den Versuchen können wir ersehen, daß die Ergebnisse beider Prüfungsreihen fast genau übereinstimmen.

Wir haben auch ein Typhusserum („496") geprüft. Hierbei gebrauchten wir einen und denselben Bazillenstamm (Momoyama) unter Zusatz von zwei verschiedenen Komplementseris (a und b). Das Komplement a wurde von Kaninchen Nr. 3 entnommen, während das Komplement b durch Mischung von 3 Kaninchensera (Kan. Nr. 2, 3 und 8) hergestellt wurde. Aus den Versuchen kann man ersehen, daß die Resultate beider Reihen fast genau übereinstimmen (Tab. 6).

Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle 5.

Bakterienstamm: nur „Cp“ verwendet.
Komplementlieferant: Kaninchen Nr. 6 und 16.
Sonst wie bei Tab. 4.

Serummenge	Komplement	Koloniezahl	
		6	16
1:2000	0,02	0	0
„	0,015	0	1
„	0,01	14	25
1:2200	0,02	2	1
„	0,015	3	7
„	0,01	22	38
1:2500	0,02	0	0
„	0,015	0	1
„	0,01	15	82
1:2800	0,02	0	0
„	0,015	0	0
„	0,01	64	25
1:3000	0,02	1	0
„	0,015	24	17
„	0,01	57	78
Standardreihe			
1 B. C. E.	0,02	0	0
„	0,015	2	5
„	0,01	78	16

Tabelle 6.

Die Wertbestimmung des Typhusserums „496“.

Bakterien: 0,5 ccm einer Typhusbouillonkultur, 15 000-fach verdünnt (entspricht ca. 1 : 100 000 Strichmengen).
Komplement: a und b.

Serummenge	Komplement-menge	Koloniezahl	
		a	b
1:800	0,2	550	630
„	0,1	800	450
„	0,05	1 250	3500
1:1600	0,2	350	280
„	0,1	300	450
„	0,05	2 100	3400
1:3200	0,2	2 100	2511
„	0,1	3 500	4500
„	0,05	12 500	9800
Standardreihe			
1 B. C. E.	0,2	450	340
„	0,1	570	980
„	0,05	4200	2900

Aussaat: 14 000.
Komplementkontrolle: 5500.

Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Zusammenfassung.

1) Die bakterizide Eigenschaft der Komplementsera verhält sich sehr verschieden, je nach dem Tierindividuum, welches das Komplement liefert. Die Bazillenresistenz gegenüber der bakteriziden Wirkung des Serums verhält sich auch sehr verschieden, je nach der Virulenz der Stämme. Eine zuverlässige Wertbestimmung des bakteriziden Serums in vitro gelingt dadurch, daß ein Standardserum benutzt wird.

2) Unser neues Verfahren der Titrierung eines zu prüfenden Serums wird in folgender Weise ausgeführt:

Es werden 2 Prüfungsreihen parallel angestellt, eine mit Standardserum und eine andere mit der Verdünnung des zu prüfenden Serums. Jedes Röhrchen der Verdünnungsreihe enthält gleichbleibende Mengen sowohl der Bakterienaufschwemmung als auch einer Serumverdünnung und abgestufte Mengen des Komplementes. Die Gläser der Standardreihe enthalten eine Bakterizidieeinheit (1 B. C. E) statt der Verdünnung des Serums. Durch diese Parallelversuche findet man, in welcher Verdünnungsreihe des Serums die Resultate mit derselben in der Standardreihe übereinstimmen. Ist z. B. dies bei der Verdünnung 1 : 1000 der Fall, so sagt man: das Serum enthält in 1,0 ccm 1000 B. C. E.

3) Man kann jedes beliebige Komplement zur Prüfung verwenden, gleichgültig, ob es von einem einzelnen Tiere stammt oder ein Mischserum von mehreren Tieren darstellt. Ebenso sind die Resultate gleich und konstant, gleichgültig, ob man einen virulenten Bazillenstamm oder einen avirulenten benutzt, wenn die Versuche durch eine parallel angestellte Standardreihe kontrolliert werden.

4) Eine gleichartige Werttitrierung sowie auch ein Vergleich der in verschiedenen Instituten hergestellten Bakterizidinsera läßt sich am sichersten und besten durch die Einführung unserer Methode ausführen.

Berichtigung.

In dem Bericht über die Verhandlungen der 9. Tagung der Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie in Würzburg 1922, diese Zeitschr. Bd. 89. H. 1—3. S. 87 findet sich als Schlußwort der Diskussion über einen Vortrag des Herrn Prof. Dr. Nöller in Berlin die Bemerkung, „daß die Zahl der Zyklonopfer schon 17 beträgt, wie Herr Geheimrat Lehmann mitgeteilt hat'. Dieser Passus ist mir unverständlich und muß irgendeinem Mißverständnis seinen Ursprung verdanken. Ich kannte damals nur den einen Klostermannschen Fall, kenne auch heute keine anderen. Wodurch das Mißverständnis zustande kam, läßt sich wohl nicht mehr aufklären. Bei dem Schlußwort des Herrn Prof. Nöller scheine ich, durch Hausvorstandspflichten veranlaßt, nicht im Raume anwesend gewesen zu sein, sonst würde ich gleich das offenbare Mißverständnis berichtigt haben.

Würzburg den 17. April 1923.

K. B. Lehmann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachschrift.

Meine Schlußbemerkung bezog sich auf die Aeußerungen, die Herr Geheimrat Lehmann im Anschluß an die Ausführungen Freymuths über die Gefahren der Blausäure und des Zyklons machte. Er nannte hierbei Ziffern über die Fälle, die ihm in seiner Gutachtertätigkeit vorgekommen waren. Bei dem Interesse, das ich, wie mein Vortrag beweist, gerade diesen Fragen entgegenbringe, ist mir meine Angabe nur als Hörfehler erklärlich, indem ein ähnliches Wort von mir als siebzehn (den Klostermannschen Fall glaube ich in der Zahl eingeschlossen) verstanden worden ist. Nach der Richtigstellung durch Herrn Geheimrat Lehmann selbst erübrigen sich weitere Erwägungen. Doch sei hier noch mitgeteilt, daß mir bei der Korrektur des Schlußwortes deshalb Zweifel aufstiegen, weil ich in der Literatur nichts Weiteres über Zyklontodesfälle fand. Ich wandte mich an die Schriftleitung, um die Bemerkung von Herrn Geheimrat Lehmann einzusehen. Mir wurde mitgeteilt, daß diese Bemerkung nicht eingegangen sei. Sie scheint auch bis zum Redaktionsschluß nicht eingetroffen zu sein, wie aus der bloßen Namenangabe des Diskussionsredners in Bd. 89. Originale. Beiheft. S. 85 hervorgeht.

Berlin den 24. April 1923. Prof. Dr. Nöller.

Eingegangen sind: Originalarbeiten von

Privatdozent Dr. Bach, Bonn,
Prof. Dr. Kabelik, Brünn,
„ „ Kadisch, Berlin,
„ „ Schmidt, Halle a. S.,
Geheimrat Prof. Dr. Pfeiffer, Breslau,
Prof. Dr. Schnürer, Wien,
Dr. G. Heuer, Berlin-Dahlem,
Donges, Oberstabsarzt, Rostock,
Dr. Bering, Jena,
Kreßler, Hyg. Instit. Jena,
Dr. Sommer, Graz,
Waldmann u. Trautwein, Insel Riems.

Inhalt.

Flu, P. C., Die Natur des Bakteriophagen und die Bildung von Bakteriophagen in alten Bouillonkulturen pathogener Mikroorganismen. Mit 2 Abbildungen im Text, S. 362.

— —, Das Verhalten eines inagglutinablen Flexner-Bakterium gegenüber Anti-Flexner-Bakteriophagen, S. 374.

Fukuhara, Y., Eine neue Methode zur Bemessung des Bakterizidietiters, S. 391.

Hopffe, A., u. **Hartmann, I.**, Bacillus mycophagus, nova species, ein bewegliches pathogenes Kapselbakterium. Mit 1 Abbildung im Text, S. 305.

Leon, N., Ueber die Speichelpumpe der Culiciden. Mit 1 Abbildung im Text, S. 361.

Lichtenstein, Stefania, Hefenährböden aus einem Hefepräparat der Fabrik Cenovis in München, S. 389.

Reichert, Fr., Ueber die Brauchbarkeit der Meinickeschen Reaktion (D.M.) zum Nachweis luetischer Veränderungen des Liquor cerebrospinalis, S. 328.

Rosenstein, Walter, Experimentelle Untersuchungen zur Prophylaxe der Dermatomykosen, S. 331.

Saul, E., Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. XXV. Mitteilung. Ueber die Erscheinungen des Rezidivierens. Mit 5 Abbildungen im Text, S. 336.

Yamaguti, K., Untersuchungen über die „grünen Kokken". Beitrag zur Bakteriologie der Mundhöhle, S. 345.

Yu, Ilchun, Beiträge zur Differenzierung der Pneumokokken, S. 322.

— —, Untersuchungen über heterologe Präzipitation, S. 381.

Zlatogoroff, S. J., Gorodkowa, A. A., u. **Karetnikowa, W. W.**, Zur Aetiologie der Ruhr, mit besonderer Berücksichtigung der Ruhrepidemie von 1920 in Petersburg, S. 316.

Berichtigung, S. 399.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 90. Heft 6.

Ausgegeben am 25. Juli 1923.

Nachdruck verboten.

Einfluss von Vitaminen auf das Wachstum einiger Bakterienarten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Greifswald (Direktor: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Von Dr. **Mario Tinti.**

Die Bedeutung der Vitamine für die ungestörte Lebensfunktion der höher organisierten Organismen ist seit den grundlegenden Arbeiten Kasimir Funks bekannt und von Jahr zu Jahr von immer weiteren Kreisen der Mediziner und Biologen bestätigt worden. Daß auch für die Bakterien die Anwesenheit von Vitaminen unerläßlich erscheint, haben vor allem amerikanische Forscher, wie Pacini und Russel, Loyd und Cole, Shearer, Klingler behauptet. Hierüber liegt bereits eine reiche Literatur vor. Wir verweisen auf die ausgezeichnete Zusammenstellung in der kürzlich erschienenen 2. Auflage des Funkschen Buches „Die Vitamine", S. 37 ff. In Deutschland war es im wesentlichen Leichtentritt[1] [2]), der den wachstumsfördernden Einfluß der Vitamine auf Bakterien, wie Staphylokokken und Diphtheriebazillen, betonte.

Es ist schon von verschiedensten Seiten festgestellt worden, daß der Hauptrepräsentant aus der Gruppe der hämoglobinophilen Bazillen, der Pfeiffersche Influenzabazillus, von zwei Faktoren in seinem Wachstum abhängt, von denen der eine thermolabil, der andere thermostabil ist. Die ausführlichen Arbeiten von Davis[3]) haben erneut erwiesen, daß die Influenzabazillen nicht mehr wachsen, wenn man sie auf Blutnährböden bringt, die einer Temperatur von 120° ausgesetzt gewesen sind. Man hatte früher angenommen, daß die Substanz, die bei höheren Temperaturen so verändert wird, daß sie für das Influenzawachstum nicht mehr in Betracht kommt, das Globin ist, ein Eiweißkörper, der das Sterilisieren nicht verträgt. Man hatte dabei nicht den Vitamincharakter im Auge, sondern dachte ausschließlich an das Globin als Nährstoffquelle. Vielleicht aber ist es nicht Nährstoffmangel, der das Wachstum der Influenzabazillen auf autoklaviertem Blutagar beeinträchtigt, sondern es mögen diejenigen Substanzen, die bei den höheren Organismen die Rolle von Vitaminen spielen, hier von Bedeutung sein. Die nachfolgenden Untersuchungen[4]), die sich im wesentlichen an die Arbeiten von Davis anschließen, beschäftigen sich mit dieser Frage.

Wir arbeiteten von vornherein mit 3 Repräsentanten der hämoglobinophilen Gruppe, nämlich mit dem Pfeifferschen Influenzabazillus,

1) Berl. klin. Wochenschr. 1921. S. 631.
2) Biochem. Ztschr. Bd. 131. 1922.
3) Journ. of inf. dis. Vol. 29. 1921.
4) Die Versuche sind von Dr. Trou Hia Hsy in unserem Institut auf Veranlassung von Herrn Prof. Friedberger begonnen, aber aus äußeren Gründen nicht zu Ende geführt, dann von mir wieder aufgenommen worden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dem Bordetschen Keuchhustenbazillus und dem Friedbergerschen Hundebazillus [1]). Schon aus den Arbeiten von Davis war zu entnehmen, daß sich der Pfeiffersche Bazillus von den übrigen Vertretern dieser Gruppe dadurch unterscheidet, daß er allein das „Ammenphänomen" oder „Satellitphänomen", wie es Davis nennt, zeigt, während die anderen Bazillen niemals eine Wachstumsförderung durch Kommensalismus erkennen lassen, ihrerseits aber fördernd auf den Influenzabazillus zu wirken imstande sind.

Wir haben nun systematisch die genannten 3 Bakterienarten auf gewöhnlichem Agar, verschieden stark erhitztem Blutagar mit und ohne Zusatz von Vitaminen gezüchtet. Die Ergebnisse von 4 verschiedenen, unter den gleichen Bedingungen angesetzten Versuchsreihen sind völlig eindeutig ausgefallen. Wir verzichten deshalb auf die detaillierte Wiedergabe jedes Versuches und bringen in folgender Tabelle eine Uebersicht über die in den 4 Versuchen erzielten Ergebnisse.

Hämoglobinophile Bakterien.

Nährboden	Influenza		Pertussis		Hundebazillus	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
Agar	—	—	—	—	—	—
„ + Karottensaft	—	—	—	—	—	—
„ + Hirnsaft	—	—	—	—	—	—
„ + Zitronensaft	—	—	—	—	—	—
„ + Lebertran	—	—	—	—	—	—
„ + Hämoglobin cristall. (0,005 Proz.)	—	—	—	—	—	—
Blutagar	±	+	—	+	+	+++
„ 5 Min. auf 100° erhitzt	++	+++	+	+++	±	++
„ 7 „ „ 100° „	++	+++	+	+++	±	++
„ 15 „ „ 100° „	++	+++	+	+++	±	+
„ 20 „ „ 100° „	++	+++	+	+++	—	±
„ 30 „ „ 100° „	++	+++	+	+++	—	—
„ 45 „ „ 100° „	++	+++	+	+++	—	—
„ 60 „ „ 100° „	++	+++	+	+++	—	—
„ 75 „ „ 100° „	+	+	+	+++	—	—
„ 90 „ „ 100° „	±	±	+	+++	—	—
„ 105 „ „ 100° „	—	—	±	++	—	—
„ 120 „ „ 100° „	—	—	±	++	—	—
„ 15 „ „ 120° „	—	—	—	—	—	—
Autoklaviertes (120°) Blutagar						
+ Karottensaft 5 Proz. (Vit. C)	+	+++	+	+++	+	++
+ „ 5 „ „ 1 Std. 100°	+	+	+	+	±	+
+ „ 5 „ „ 2 „ 100°	—	—	—	—	—	—
+ „ 5 „ „ 15 Min. 120°	—	—	—	—	—	—
+ Hirnsaft 5 Proz. (Vit. B)	+	+++	+	+++	±	++
+ „ 5 „ „ 1 Std. 100°	+	++	+	+++	±	+
+ „ 5 „ „ 2 „ 100°	—	—	—	—	—	—
+ „ 5 „ „ 15 Min. 120°	—	—	—	—	—	—
+ Zitronensaft 2 Proz. (Vit. C)	++	+++	+	+++	±	+
+ „ 2 „ „ 1 Std. 100°	±	+	+	++	—	—
+ „ 2 „ „ 2 „ 100°	—	—	—	—	—	—
+ „ 2 „ „ 15 Min. 120°	—	—	—	—	—	—
+ Lebertran 1 Proz. Emuls. (Vit. A)	±	+	±	+	—	—
+ „ 1 „ „ „ 1 Std. 100°	±	±	±	±	—	—
+ „ 1 „ „ „ 2 „ 100°	—	—	—	—	—	—
+ „ 1 „ „ „ 15 Min. 120°	—	—	—	—	—	—

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. S. 401.

Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Die Technik gestaltete sich sehr einfach. Sämtliche Stämme wurden auf dem „Amerikanischen Nährboden" (5-proz. Kaninchenblutagar, 10 Min. gekocht, unfiltriert) in Schrägröhrchen bei 37° etwa 30 Std. gezüchtet, und von dieser Kultur ein Ausstrich auf einer Petri-Schale, die mit den in der Tabelle genannten Agarsorten gefüllt war, angelegt. Die Petri-Schalen waren in 3 Sektoren zerlegt, in deren Bereich je 1 Stamm geimpft wurde.

Wir sehen also aus der Tabelle in neuer Bestätigung, daß die hämoglobinophilen Bazillen ihren Namen zu Recht tragen. Keiner von ihnen zeigte auch nur die Spur eines Wachstums auf gewöhnlichem Agar. Auch Zusatz von pflanzlichen Vitaminen, wie Karottensaft, Zitronensaft und von tierischem Hirnsaft, Lebertran, ermöglichten keinerlei Wachstum, vorausgesetzt, daß die tierischen Organe vor der Benutzung hinreichend ausgewaschen waren, so daß der Blutfarbstoff genügend aus ihnen entfernt war. Daß diese sorgfältige Waschung unerläßlich ist, um sich vor Fehlergebnissen zu schüten, zeigte ein Versuch, bei dem ein schwaches, aber immerhin deutliches Wachstum aller 3 Stämme, besonders aber des Hundebazillus, auf Hirnsaftagar eintrat. Die Prüfung des Hirnsaftes mit Benzidin ergab eine schwache, aber unverkennbare Blaufärbung. Um uns ein Bild von der Konzentration des noch vorhandenen Hämoglobins zu machen, stellten wir empirisch durch kolorimetrischen Vergleich fest, welche Verdünnung lackfarben gemachten Kaninchenblutes in der Reaktionsstärke der Blutfarbstoffkonzentration im Hirnsaft am besten entsprach. Es zeigte sich, daß ungefähr eine Verdünnung von 0,5 auf 1000 die gleiche Farbtiefe ergab. Makroskopisch war von einem Blutfarbstoffgehalt der Blutverdünnung nichts mehr festzustellen. An und für sich ist wohl anzunehmen, daß die notwendigen Hämoglobinmengen außerordentlich klein sind, genügen doch nach Ghon und v. Preyß[1]) schon so geringe Hämoglobinmengen für die Züchtung des Influenzabazillus, die spektroskopisch ohne Hydrazinzusatz wohl nachzuweisen sind. Damit in Uebereinstimmung steht die Auffassung der Wirkungsweise des Hämoglobins als die eines Katalysators, der in der Freimachung des Sauerstoffs aus dem 2., zum Wachstum notwendigen Faktor seinen Einfluß ausübt. Wenn es sich aber um Katalysatorerscheinungen handelt, so versteht es sich aus der Natur solcher Wirkungen von selbst, daß schon Spuren von ihnen genügen, um die größten Erfolge zu erzielen.

Wir gingen nunmehr über zur Feststellung, bei welcher Temperatur der Blutagar so weit geschädigt wird, daß ein ausreichendes Bakterienwachstum auf ihm nicht mehr zu erzielen ist. Zu diesem Zweck wurde, wie aus der Tabelle ersichtlich, der Agar 5—120 Min. bei 100° gekocht und schließlich 15 Min. bei 120° autoklaviert. Bei der Durchsicht der Ergebnisse fällt es von vornherein auf, daß die 3 Bakterienarten sich schon auf ungekochtem Blutagar ganz verschieden verhalten. Während der Influenzabazillus nach 24 Std. zu kaum erkennbaren, tautropfenähnlichen Ansammlungen angewachsen ist, sind die Kolonien des Pertussisbazillus überhaupt noch nicht zu sehen, während der Hundebazillus deutliches Wachstum zeigt. Nach 48 Std. ist der Influenzabazillus deutlich sichtbar, auch Pertussis ist jetzt zu erkennen, der Hundebazillus zeigt ein schönes reichliches Wachstum. Das Bild ändert sich mit einem Schlage, wenn der Agar gekocht wird. Für den Influenzabazillus ist es gleichgültig, ob der Agar 5 oder 60 Min. gekocht wird, er wächst sehr kräftig und unvergleichlich stärker als auf ungekochtem Blut. Von da

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ab nimmt das Wachstum ab, bei 90 Min. ist es kaum mehr sichtbar. Nach $1^3/_4$ Std. bleibt es völlig aus. Im autoklavierten Agar fehlt es ebenfalls.

Der Keuchhustenbazillus wächst zwar auch nicht auf autoklaviertem Agar, für ihn ist aber die Toleranzgrenze der Agarerhitzung eine wesentlich größere. Noch nach 2stdig. Erhitzen ist deutliches, wenn auch schwaches Wachstum zu erkennen, das nach 48 Std. noch recht kräftig werden kann.

Ganz anders der Hundebazillus. Mit zunehmender Erhitzung verliert der Agar immer mehr seine Eignung zum Wachstum. Wächst er auf unerhitztem Blutagar nach 24 Std. deutlich, nach 48 Std. mit schönen, saftigen Kolonien, so wird schon nach 5 Min. langem Kochen das Wachstum wesentlich schwächer, nach 15 Min. langem Kochen ist nach 24 Std. nichts mehr zu erkennen, nach 48-stünd. Bebrütung dagegen noch eine Spur, die nach 30 minüt. Erhitzung auch fehlt.

Die weiteren Versuche erstreckten sich darauf, durch welche Zusätze der autoklavierte Blutagar regeneriert werden konnte. Wir benutzten dazu die Hauptrepräsentanten der 3 Vitamingruppen, den Lebertran als A-Vitamin, als B-Vitamin Hirnsaft, als C-Vitamin Zitronensaft und Karottensaft, die aber auch andere Vitamine in reicher Menge enthalten sollen.

Die Technik der Gewinnung gestaltete sich folgendermaßen: Eine Karotte wurde auf einem Reibeisen gut zerrieben, mit der gleichen Gewichtsmenge destill. Wassers versetzt, in der Hand kräftig geschüttelt und dann durch Kerze filtriert.

Herstellung des Hirnsaftes: Meerschweinchengehirn wurde in 4 Teile zerlegt, 2 Std. in fließendem Wasser zur Entfernung des Hämoglobins gewaschen, dann gut zerkleinert und mit 50 ccm destill. Wassers versetzt. Nach kräftigem Schütteln und Papierfiltration wurde auch noch durch die Berkefeld-Kerze filtriert.

Zitronensaft: Eine halbe Zitrone wurde ausgepreßt, der Saft filtriert, mit 10-proz. Sodalösung bis zum Lackmusneutralpunkt neutralisiert. Mit der Michaelisschen Indikatorenmethode gemessen, zeigte dieser so neutralisierte Saft ein Ph von 7,2.

Lebertran: Gummi arabicum wurde mit destill. Wasser zu einer Suspension von syrupartiger Konsistenz angerührt. Zu 5 ccm dieser Lösung wurde 0,5 ccm aus der Apotheke bezogener Lebertran zugesetzt und kräftig geschüttelt, bis eine gleichmäßige Emulsion erfolgt war.

Es zeigte sich, daß die B- und C-Vitamine auf Influenzabazillen gleichmäßig wirkten, und daß auch der Keuchhustenbazillus unter Zusatz dieser Vitamine zu einem lebhaften Wachstum auf autoklaviertem Blutagar gebracht werden konnte. Kräftig, wenn auch wesentlich schwächer als auf ungekochtem Blutagar, war auch das Wachstum der Hundebazillen. Nach 2-stünd. Kochen oder 15 Min. langem Autoklavieren der Vitamine bleibt jede Wirkung aus.

Der Einfluß des A-Vitamins war allgemein geringer. Für Hundebazillen konnte überhaupt keine Regeneration des Agars erreicht werden; für Influenza und Pertussis dagegen eine schwache, aber deutliche.

Ueberblicken wir die Gesamtversuche, so können wir sagen, daß die Angaben der genannten Autoren in jeder Beziehung bestätigt worden sind, daß nämlich für das Wachstum der hämoglobinophilen Bazillen, soweit sie von uns untersucht wurden, 2 Faktoren notwendig sind, einmal das Hämoglobin und 2. noch akzessorische Stoffe. Das Hämoglobin als solches, wie es in dem ungekochten Blut existiert, eignet sich für die Züchtung des Influenza- und Pertussisbazillus schlecht, für die Hundebazillen dagegen bietet es optimale Wachstumsverhältnisse. Erst durch den Kochprozeß wird das Hämoglobin in die für Influenza und Pertussis wirksamere, für Hundebazillen dagegen unwirksamere Variante,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nämlich das Hämatin, umgewandelt. Bei längerem Kochen wird das Hämatin nicht weiter verändert. Dagegen wird der 2. Faktor zerstört. Am wenigstens scheint auf ihn angewiesen zu sein der Pertussisbazillus, denn er wächst noch bei 2 Std. langem Kochen, wenn auch deutlich schwächer. Sehr empfindlich und abhängig von diesem 2. thermolabilen Faktor sind die Hundebazillen; in der Mitte stehen die Influenzabazillen, die erst bei über 1-stünd. Erhitzen eine Abschwächung ihres Wachstums zeigen. Die Vitamine B und C ermöglichen für alle 3 Bakterienarten wieder das Wachstum, nur graduelle Unterschiede sind vorhanden. Das Vitamin A dagegen kommt nur für Influenza und Pertussis in Betracht.

Es ist also auf Grund dieser Kulturversuche die Möglichkeit gegeben, die 3 Arten von Bakterien voneinander zu differenzieren, vorausgesetzt, daß sich alle Influenza-, Pertussis- und Hundebazillen der verschiedensten Rassen gleichsinnig verhalten, was noch erst zu erweisen wäre. Wächst der fragliche Bazillus auf ungekochtem Blutagar gut, nach 48 Std. sogar kräftig und ist das Wachstum auf gekochtem Blutagar wesentlich schwächer, so handelt es sich mit großer Wahrscheinlichkeit um Hundebazillen. Wird durch das Kochen das Wachstum aber verstärkt, so kommen Influenza und Pertussis in Frage. Diese beiden kann man dadurch unterscheiden, daß man ihr Wachstum auf 2 Std. gekochtem Blutagar beobachtet. Tritt hier Wachstum ein, so handelt es sich wahrscheinlich nicht um Influenza, sondern um Pertussis. Durch Vitaminzusatz läßt sich die Diagnose nicht weiter spezialisieren.

Wenn wir angenommen haben, daß es sich bei den akzessorischen Stoffen um die Wirkung von Vitaminen handelt, so begründet sich unsere Annahme 1. auf die Tatsache ihrer fehlenden Thermoresistenz und 2. auf die geringen Quantitäten, die zu ihrer Wirkung notwendig sind. Bei einem Gehalt von 2-proz. Zitronensaft oder 5 Proz. eines Saftes, der nur kurze Zeit mit Karotten oder Hirn in Kontakt gewesen ist, und bei dem nur verhältnismäßig geringe Mengen in Lösung gegangen sein können, fällt es schwer, diese Wirkung als Nährstoffwirkung aufzufassen, zumal da der Agar schon überreich an anderen Nährstoffen, Pepton, Serumbestandteilen, Fleischextrakt ist, die den Bakterien Stickstoff- und Kohlenstoffquellen in allen möglichen Konstitutionen anbieten. Außerdem ist offenbar die chemische Konstitution der zugesetzten Säfte, wenn man z. B. den Hirnsaft mit dem Zitronensaft vergleicht, eine so außerordentlich verschiedene, daß es gezwungen erscheint, die gleichen begünstigenden Nährsubstanzen in ihnen annehmen zu wollen. Die von Davis geäußerte Ansicht, daß es sich aber, wie schon erwähnt, nicht um Vitamine in engerem Sinne, sondern um eine Freimachung von Nährstoffen durch die als Katalysator wirkenden Hämoglobin- resp. Hämatinstoffe handelt, kann a priori nicht ausgeschlossen werden. Speziell darauf eingestellte Versuche hätten diese Annahme experimentell noch weiter zu belegen.

Wir haben den Einfluß der Vitamine nicht nur auf das Wachstum der hämoglobinophilen Bazillen untersucht, sondern auch auf das anderer dysgonischer Bakterien. Zunächst haben wir die Diphtheriebazillen in den Bereich unserer Betrachtungen gezogen. Besonders Leichtentritt[1]) hat mit ihnen umfassende Untersuchungen angestellt und gefunden, daß der Zitronensaft eine ganz besonders starke Wachstumsförderung auszuüben vermag. Wir können diese Angabe nur mit ge-

1) l. c.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wissen Einschränkungen bestätigen. Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß das Wachstum auf Loeffler-Serum bei keinem anderen Nährboden auch nur annähernd erreicht wird.

Diphtherie.

Nährböden	Messung der Kolonien (mm)				Bemerkungen
	24 Std.		48 Std.		
	Schwankungsgrenzen	Mehrzahl	Schwankungsgrenzen	Mehrzahl	
Agar	0,04—0,50	0,22	0,05—0,90	0,40	Kolonien klein und zart
Glyzerinagar	0,07—0,40	0,22	0,14—0,90	0,40	
Agar + Lebertran	0,10—0,50	0,33	0,05—0,80	0,50	
„ + Karottensaft	0,04—0,50	0,30	0,05—1,20	0,50	Kolonien klein und zart
„ + Hirnsaft	0,04—0,42	0,25	0,05—1,10	0,60	
„ + Zitronensaft	0,04—0,60	0,35	0,05—1,30	0,60	Kolonien kräftiger

Die 2. und 4. Vertikalkolonne in der Tabelle zeigen die Grenzdurchmesser, die bei den kleinsten und größten Kolonien nach 24 und 48 Std. beobachtet worden sind, die 3. und 5. die Durchmesser der am zahlreichsten beobachteten Kolonien.

Wir sehen, daß auf gewöhnlichem Agar nur ein sehr schwaches Wachstum zu erzielen war. Durch Zusatz von Glyzerin konnte es nur unwesentlich verbessert werden. Deutlich stärker war die Begünstigung durch Vitaminzusatz, und zwar wirkten hier Lebertran und Zitronensaft anscheinend besser als Karottensaft und Hirnsaft. Trotzdem aber sind alle diese Agarsorten dem Loeffler-Serum bei weitem unterlegen. Speziell für die Züchtung direkt aus dem Körper in der 1. Generation hat man in der Mehrzahl der Fälle mit allen diesen Nährböden Versager. Ab und zu geht ein Stamm direkt vom Tupferausstrich auf der Schmierplatte oder dem Schmierröhrchen an. Bei der mikroskopischen Durchmusterung des üblichen Mischpräparates findet man jedoch ein auffallendes Zurückbleiben der Diphtheriebazillen an Zahl gegenüber den auf der Loeffler-Platte gewachsenen Kulturen.

Für die Streptokokken ist der zweifellos beste Nährboden der Blutagar. Alle übrigen Vitamine verbessern zwar die Qualitäten des gewöhnlichen Agars, ohne jedoch auch hier die Güte des Blutagars zu erreichen. Nächst am besten scheint von allen Vitaminarten hier der Lebertran zu sein.

Die Versuchsprotokolle über 3 von uns geprüfte Meningokokkenstämme geben wir nicht wieder, da das Ergebnis ein völlig negatives

Streptokokken.

Nährböden	Messung der Kolonien (mm)				Bemerkungen
	24 Std.		48 Std.		
	Schwankungsgrenzen	Mehrzahl	Schwankungsgrenzen	Mehrzahl	
Agar	0,04—0,15	0,07	0,05—0,20	0,08	Kleine, spärliche Kolonien
Blutagar	0,10—0,45	0,30	0,07—0,80	0,40	
Agar + Lebertran	0,07—0,22	0,15	0,05—0,45	0,20	
„ + Karottensaft	0,04—0,18	0,12	0,05—0,33	0,18	Kleine, spärliche Kolonien
„ + Hirnsaft	0,05—0,22	0,12	0,04—0,30	0,15	
„ + Zitronensaft	0,05—0,20	0,10	0,05—0,30	0,16	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

war. Irgendeine Wachstumsverbesserung war auch nicht andeutungsweise vorhanden. Man muß allerdings einschränkend in Betracht ziehen, daß es sich bei den 3 geprüften Arten anscheinend um alte Laboratoriumsstämme handelt, die schon zahlreiche Nährbödenpassagen durchgemacht hatten. Sie wuchsen auch auf gewöhnlichem Agar ohne Asziteszusatz üppig. Ein Einfluß auf ihre Agglutinabilität konnte nicht geprüft werden, da sie bei den immer wieder erneut wiederholten Versuchen stets auch in Normalserum spontan agglutinierten, ebenso in Kochsalzkontrollen.

Negativ waren ferner unsere Versuche mit Tubelkelbazillen.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss von Salzen auf die Vibrionen der Cholera asiatica.

Von Dr. **J. Kabelík,** ao. Prof. für Mikrobiologie an der Universität Brünn.

und Dr. **S. Freudmann,** Sek.-Arzt d. Prosektur des Landeskrankenhauses in Olmütz.

Unter diesem Titel veröffentlichte Dr. Kabelík in dem Čas. čes. lék. Jg. 1919. S. 946 einen Artikel über den Einfluß des Natriumchlorides auf die Kultivierung von Cholera. Nach der Publikation der Arbeit Sierakowskis im Przegl. epidemiol. II. 1922. H. 1 nahmen wir unsere diesbezüglichen Versuche wieder von neuem auf. Sierakowski studierte nämlich in seiner Arbeit die verschiedenen physikalischen und chemischen Einflüsse auf die Kultivierung der geläufigen Mikroben, und zwar vom rein praktischen Standpunkte aus. Für die Erzeugung von Vakzinen ist es, um die größtmöglichste Ausbeute zu erzielen und so ökonomisch als möglich zu arbeiten, wichtig, festzustellen, wieviel Mikroben unter verschiedenen Verhältnissen auf einem bestimmten Nährboden wachsen. Er versuchte außer anderem den Einfluß des Kochsalzes auf viele Mikroben und fand für Cholera das Optimum des Wachstums bei ½-proz. NaCl. Sierakowski ist aus der Literatur aber nur die Arbeit Beauveries bekannt, der das Optimum bei 3-proz. NaCl feststellte[1]); den Unterschied zwischen seinem und Beauveries Befund erklärt sich Sierakowski damit, daß die Verhältnisse auf festen Nährböden, mit denen er arbeitete, andere sind als bei Anwendung flüssiger

1) Um kurz den Werdegang dieser Frage zu wiederholen, wollen wir bemerken, daß Dr. Bečka beim Studium der Desinfektionseigenschaften des Kochsalzes auf pathogene Mikroben eine hohe Widerstandskraft der Choleravibrionen gegen Kochsalz beobachtete. Der Choleravibrio wuchs ganz gut in stärkerer Konzentration. In dem Falle Bečkas handelte es sich um die Feststellung, inwieweit es möglich ist, mit Salz konservierte Speisen, z. B. Salzheringe, zur Zeit einer Epidemie für einwandfrei zu halten. Nach der mündlichen Mitteilung Bečkas studierte Kabelík diese Frage quantitativ durch und publizierte, veranlaßt durch das Erscheinen der Arbeit Beauveries, seine diesbezüglichen Befunde. Zum Unterschied von Beauverie stellte er jedoch fest, daß es sich um Ionenwirkungen, keineswegs, wie Beauverie meint, um den Einfluß des osmotischen Druckes handle. Im übrigen verweisen wir auf den diesbezüglichen Artikel in der Čas. čes. lék. Jg. 1919. S. 946, in dem die sonstigen Befunde Beauveries bestätigt werden und zur Kultivierung der Cholera aus Stuhl Peptonwasser mit 3-proz. NaCl. empfohlen wird.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nährböden. Seine Ansicht stützte er jedoch keineswegs durch das Experiment. Die wahre Ursache liegt jedoch, wie uns von Anfang an klar war, in der verschiedenen Alkalität des benützten Nährbodens. Dem Nachweise dieser Anschauung gilt diese Arbeit. Es wurden also neuerdings die früheren Versuche unter besonderer Rücksichtnahme auf die wirkliche Alkalität des verwendeten Nährbodens wiederholt.

Die Versuche wurden diesmal mit alten Laboratoriumsstämmen ausgeführt und festgestellt, daß zwischen diesen und den aus frischen Fällen isolierten Stämmen keinerlei Unterschied besteht. Man kann daher die Nichtübereinstimmung zwischen Beauverie und Sierakowski nicht durch diesen Umstand erklären. Auch Sierakowskis Erklärung ist nicht richtig.

Wir bereiteten uns jeweils einige Reihen von Proberöhrchen mit 2-proz. Peptonwasser, gewöhnlicher Bouillon, Agar und Gelatine. In jeder Serie wurde hierauf einerseits die Alkalität von schwach sauer bis stark alkalisch, andererseits die Menge des Salzes von 0—6-proz. NaCl geändert. Hierauf wurde mit einem Cholerastamm beimpft und das Wachstum beobachtet. Es waren jedoch nirgends grundsätzliche Unterschiede zwischen festen und flüssigen Nährböden zu beobachten. Leichte Abweichungen sind freilich vorhanden, diese lassen sich jedoch leicht schon damit erklären, daß jeder der verwendeten Nährböden, wie mit Hilfe von Indikatoren gemessen wurde, ein anderes Pufferungsvermögen besitzt und so ihre aktuelle Reaktion nicht immer gleich war, selbst wenn steigend die gleiche Menge Natronlauge zugefügt wurde. In Bouillon wuchs die Cholera nur bis 4 Proz. Kochsalz, und da sehr schwach, in Peptonwasser bis 6 Proz., augenscheinlich wegen des Zusatzes der in dem zugefügten Fleischwasser enthaltenen Salze. Im Prinzip jedoch war der ganze Wachstumsverlauf überall derselbe. Die Erklärung Sierakowskis ist daher nicht berechtigt.

Da der Versuch im Prinzip überall gleich ausfällt, veröffentlichen wir hier nur das Protokoll der Versuche mit Peptonwasser, da dieser Nährboden der einfachste ist. Wir lösen 2 Proz. Pepton in destill. Wasser auf und bringen die Lösung mit Hilfe von Natronlauge auf genau lackmusneutrale Reaktion. Zur Orientierung über das Pufferungsvermögen der Lösung stellten wir fest, daß zum Steigen der Alkalität vom Lackmus- zum Phenolphtaleinpunkt auf 5 ccm Lösung 0,12 ccm n/10 NaOH notwendig sind. Diese Peptonlösung wird hierauf in 4 Kölbchen verteilt und in jedes aufsteigend: $^1/_2$-, 1-, 2-, 4-proz. NaCl gebracht. Aus jedem Kölbchen wird hierauf unter aseptischen Kautelen eine Reihe von Proberöhren mit je 2 ccm gefüllt und überall aufsteigend alkalisiert: 0, 0,1, 0,2—0,5 ccm n/15 NaOH. Dann wurden die Proberöhren überkocht und mit einer geringen Menge von Choleravibrionen geimpft. Das Resultat des Versuches ist aus Tab. I ersichtlich.

Aus der Tab. I geht hervor, daß bei höherer Alkalität die optimale NaCl-Konzentration schnell sinkt, welch letztere bei neutraler Reaktion um 3 Proz. herum und höher liegt, bei alkalischer Reaktion bedeutend niedriger ist. Hierdurch ist die Nichtübereinstimmung zwischen Sierakowski und Beauverie leicht zu erklären. Wir beobachten auch interessante Veränderungen im Charakter der Trübung; an Stelle der diffusen Trübung der Lösung sehen wir bei größerer Konzentration des Salzes oder des Alkalis das Peptonwasser vollkommen klar, dafür aber auf der Oberfläche ein stärkeres, zusammenhängendes Häutchen, das anderswo nur angedeutet oder überhaupt nicht vorhanden ist. Mikro-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

Grundlage: 2-proz. Lösung von Pepton in destill. Wasser.

Pufferungsvermögen: Vom Lackmus- zum Phenolphtaleinpunkt wurden auf 5 ccm Peptonwasser (= P.-W.) 0,12 ccm n/10 NaOH verbraucht.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.
P.-W.	2	2	2	2	2	2 ccm
n/15 NaOH	θ	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5 „
H_2O	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	θ „
I. ½-proz. NaCl	+±	++	++	++	++	++
	++	++	++	++	++	++
II. 1-proz. NaCl	+±	+±	++	+++	++	+±
	++	+	+	+	+	+
III. 2-proz. NaCl	++±	+±	+±	+H	+H	θ
	++	+	∓	∓	∓	θ
IV. 4-proz. NaCl	++	+	∓	θ	θ	θ
	++H	+H	∓	θ	θ	θ

Erläuterung: Mit dem Zeichen + wird die Trübung angedeutet, und zwar von +++ über ∓ bis θ.

Die Zeichen der oberen Reihe stellen den Stand nach 20-stünd. Inkubation bei 36° C dar, die Zeichen der unteren Reihe nach 3täg. Inkubation bei 36° C. — Die Abnahme der Trübung wird bewirkt einesteils durch den beschleunigten Zerfall der Vibrionen, anderenteils durch die stärkere Sedimentation.

H = Ausbildung eines dicken kompakten Häutchens.

Tabelle II.

2-proz. Peptonwasser wie im vorhergehenden Falle.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
P.-W.	2	2	2	2	2	2	2	2 ccm
n/10 HCl	0,2	0,1	θ	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5 „ n/10 NaOH
H_2O	0,3	0,4	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	θ „
I. θ-proz. NaCl	θ	θ	θ	+	++	+	θ	θ
	θ	θ	θ	∞	∞	+++	θ	θ
II. 1-proz. NaCl	θ	+	+	+	++H	±	θ	θ
	θ	∞	∞	∞	∞	∞	θ	θ
III. 2-proz. NaCl	θ	++	++	θ	θ	θ	θ	θ
	θ	∞	∞	θ	θ	θ	θ	θ
				[∞]	[∞]	[∞]	[+++]	
IV. 4-proz. NaCl	θ	+	++	+	+	θ	θ	θ
	θ	∞	∞	∞	∞	θ	θ	θ
						[∞]	[+++]	
V. 6-proz. NaCl	θ	±	±	θ	θ	θ	θ	θ
	θ	∞	+++	+[1]	θ	θ	θ	θ
					[∞]	[∞]	[+++]	

Erläuterung: Die Zeichen in der ersten Reihe ebenso wie in Tab. I. Die Trübung des Peptonwassers wurde nach 36stünd. Inkubation bei 36° C abgelesen. Hierauf wurde eine kleine Drahtschlinge voll auf Agarplatten geimpft und weitere 24 Std. im Thermostat belassen. Die Zeichen in der zweiten (unteren) Reihe stellen die Anzahl der auf dem Agar gewachsenen Kolonien dar, und zwar: ∞ = zusammenhängender Belag; +++ = gegen 500 Kolonien; + = gegen 50 Kolonien.

Hierauf wurde in die Proberöhrchen, bei denen 3 Reihen von Zeichen sind, von neuem eine große Menge Vibrionen verimpft, so daß aus einer Schlinge voll ungefähr 500 Kolonien wuchsen. Nach neuerlicher 24stünd. Inkubation auf Agar überimpft. Das Resultat ist in der Tabelle in der 3. Reihe in eckigen Klammern angegeben.

1) Es wuchsen ungefähr 40 Kolonien, von denen der größte Teil gegenüber dem Originalstamm in den trüben Typus verändert wurde.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

skopisch fanden wir in der ganzen I. Reihe reichlich, überall gut bewegliche Vibrionen; in der III. Reihe zeigen sich die Vibrionen einigermaßen gestreckt, in den Proberöhrchen 2—4 sind sie stark agglutiniert und in 5.—6. nehmen sie sehr an Beweglichkeit ab. Noch stärker ist dies in der IV. Reihe ausgeprägt. Mikroskopisch finden wir da noch Vibrionen in den Proberöhren 4—5, welche sonst keine Trübung zeigen. Das Wachstum ist hier zwar gehemmt, die Vernichtung der Mikroben muß jedoch nicht immer eintreten, wenigstens nicht in den ersten 24 Std. Von hier aus können wir die Cholera kultivieren, und soll unser Versuch richtige Resultate ergeben, müssen wir sorgsam darauf achten, daß wir beim Impfen überall die womöglich gleiche und nicht zu große Menge überimpfen, da sonst die Feststellung der Wachstumsgrenze nicht immer stimmen würde. Als Beispiel diene uns Tab. II (S. 409).

Nach dieser Tabelle scheint der Einfluß des Salzes eine periodische Funktion zu sein; bei 2 Proz. ist die Kultur mehr gehemmt als bei 1 Proz., aber auch mehr als bei 4 Proz. Sierakowski verzeichnet auf seinen Graphen bei der Cholera die vollkommen gleiche Beobachtung, und wir stellten das gleiche noch bei einem anderen Versuche auf Agar fest. Es ist hier jedoch Vorsicht und weitere Beobachtung geboten. Impfen wir namentlich die Proberöhrchen, in denen vorher nichts wuchs, von neuem mit einer großen Menge Mikroben, so finden wir dieselben dennoch in der Kultur. In der Tabelle ist dieser Versuch mit den in eckigen Klammern angeführten Zeichen angedeutet. Es ist möglich, daß sich nach längerem Verweilen im Thermostat die Alkalität unter dem Einfluß des Luft-CO_2 oder unter dem der großen Menge des mikrobiellen Eiweißes geändert hatte. Wahrscheinlich ist es jedoch, daß die große Menge leichter der vernichtenden Wirkung des Mittels widersteht, wie wir dies schon von der Desinfektion überhaupt kennen. Es hängt dies unstreitig mit dem sogenannten „Bios"-Problem zusammen, nämlich mit der Beobachtung, daß auf vielen Böden manche Bakterien sich nur dann fangen und wachsen, wenn wir sie auf dieselben in größerer Menge überimpfen.

Eine genaue Erklärung der hier beobachteten wechselseitigen Beziehung des Alkalis und Salzes können wir momentan nicht geben. Wir konnten vorläufig nicht feststellen, inwieweit es möglich ist, diese Erscheinung mit dem Einfluß des Salzes auf die Dissoziation der Lauge zu erklären. Uebrigens liegt es hier nicht nur an dem P_H des Bodens, sondern auch an der sogenannten Aktivität der H-Ionen, auf die das Salz auch einen großen Einfluß hat. (Vgl. Michaelis, Wasserstoffionenkonzentration. S. 114—127, hauptsächlich dann S. 114, 119 u. 125.) Eine genaue physikalisch-chemische Messung wäre hier am Platze, ist jedoch für uns vorläufig nicht durchführbar, da wir in der Anstalt nicht die Instrumente für die elektromotorische Messung des P_H haben, die Messung mit Hilfe der Indikatoren aber versagt, denn bei einer Konzentration des Salzes über 1 Proz. kann man dieselbe wegen des sogenannten Salzfehlers der Indikatoren nicht anwenden. Es ist auch sehr wahrscheinlich, daß hier nicht nur $H^{\cdot}$- und OH'-Ionen von Bedeutung sind, sondern auch die $Na^{\cdot}$. Hier werden noch Versuche mit anderen Alkalien als mit NaOH und mit verschiedenen anderen Salzen, nicht nur mit NaCl, notwendig sein.

Es muß bemerkt werden, daß diese kombinierte Wirkung von Salz und Alkali keineswegs für Cholera spezifisch ist, sondern sie gilt für alle Eiweißstoffe. Auf Gelatine zeigt sie sich z. B. durch Verflüssigung auch bei einer Temperatur von 15° C, wie aus Tab. III erhellt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.

10-proz. Fleischpepton-Gelatine von üblicher Herstellung.
Pufferungsvermögen: Vom Lackmus- zum Phenolphtaleinpunkt wurden auf 5 ccm Gelatine 0,22 ccm n/5 NaOH verbraucht.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.
Gelatine	6	6	6	6	6	6 ccm
n/5 NaOH	θ	0,3	0,6	0,9	1,2	1,5 „
H_2O	1,5	1,2	0,9	0,6	0,3	θ „
I. $^1/_2$-proz. NaCl	n	n (Optimum)	< n	< n	θ	θ ×
II. 1-proz. NaCl	n	n (Optimum)	n	minim.	θ	θ ×
III. 2-proz. NaCl	n	n (Optimum)	< n	< n	θ	θ ×
IV. 4-proz. NaCl	< n	< n	θ	θ ⩙	θ ×	θ ×

Erläuterung: Bei stark alkalischer Gelatine zeigt sich sehr starke Ausflockung. Die Gelatine wurde länger flüssig erhalten, damit sich die voluminösen Flocken gut zu Brocken setzten, hierauf in die Kälte gebracht, wo sie erstarrte; dann wurden Stichkulturen angelegt. Abgelesen nach 5tägiger Inkubation bei 18° C.

n = normales Wachstum und Verflüssigung.
< n = normales Wachstum und Verflüssigung, aber bedeutend geringer.
× = die Gelatine bleibt flüssig auch bei 15° C.
⩙ = die Gelatine bleibt halbflüssig auch bei 15° C.

In anderen Versuchen stellten wir fest, ob es möglich ist, Unterschiede zwischen den einzelnen Cholerastämmen und anderen Vibrionen zu finden. Alle Cholerastämme verhalten sich da jedoch beinahe gleich, dafür zeigen andere Vibrionen gegenüber Salz eine weit größere Empfindlichkeit. Als Beispiel führen wir Tab. IV an. Die chemischen Eigenschaften der Cholerastämme blieben unter dem Einflusse des Salzes unverändert, wenigstens war die Verflüssigung der Gelatine von dem ganz für die Cholera charakteristischen Typus, und in der Intensität entsprach sie vollkommen dem Wachstum (s. Tab. III). Auch die Cholerarotreaktion entspricht im ganzen dem Wachstum. Bei dem in Tab. IV verzeichneten Versuche war sie in den mit einem Ringlein ○ bezeichneten Eprouvetten gut sichtbar, am stärksten bei der Marke ○○, überhaupt nicht aber in den Proberöhrchen ohne Zeichen.

Für den praktischen Gebrauch kann also Peptonwasser mit 3-proz. NaCl warm empfohlen werden, welches man noch durch Stärkezusatz vervollkommnen könnte nach Art des Kodamaschen Nährbodens, der vielleicht durch Salzzusatz für Cholera spezifisch werden würde. Entschieden ist die Erhöhung des dem auf Lackmus neutral reagierenden Peptonwasser zugefügten Salzes bedeutend vorteilhafter als die Erhöhung der Alkalität, da erstere viel leichter, genauer und hauptsächlich beständiger ist, denn die aktuelle Reaktion der Böden ändert sich schnell genug mit der Zeit und unter dem Einfluß der atmosphärischen CO_2 und der aus dem Stuhl zusammen mit der Cholera ins Peptonwasser überimpften Darmmikroben.

In dieser Hinsicht wurde von uns der Einfluß des Salzes noch besonders studiert. Wir kamen zur Erkenntnis, daß für alle Nährböden zum Aufsuchen der Mikroben aus Stuhl man nicht nur den Vermehrungskoeffizienten des Bodens für den gesuchten Mikroben, sondern auch den Einfluß des Bodens auf den Antagonismus des B. coli studieren muß.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

2-proz. Peptonwasser, sehr schwach alkalisch gegen Lackmus.

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
NaCl	$^1/_2$-proz.	1-proz.	2-proz.	3-proz.	4-proz.	5-proz.
a) V. cholerae, Stamm I	++	+++	++	+	∓	θ
Typus hell, norm.	+	+	+++	+	±	θ
	○	○	○	○○	○○	
b) V. cholerae, Stamm I	+±	++±	+++	++	∓	θ
Typus dunkel, mutiert	+±	++±	+++	+	∓H	θ
	○	○	○	○○	○○	
c) V. cholerae, Stamm II	+±	+++	++	±	∓	θ
Typus hell	+±	+++	++	±	∓	θ
	○	○	○	○○	○○	
d) V. Finkleri	++	+	±	θ	θ	θ
	++	+	±	∓	θ	θ
e) V. lophotrichon [1])	++	+±	+	θ	θ	θ
(iners)	++	+±	+	∓	θ	θ

Erklärung: Die gleichen Zeichen wie in Tab. I u. II, die oberen bezeichnen den Stand nach 20stünd. Inkubation bei 36° C, die unteren nach weiterem 3täg. Verweilen in Zimmertemperatur.

○ = sind die Zeichen für die Cholerarotreaktion.

Es gibt Coli-Stämme, welche sehr leicht und schnell die übrigen Mikroben überwuchern („starke" Stämme), so daß wir, wenn wir z. B. 20 Ty-Bazillen und 1 B. coli in Bouillon impfen und 20 Std. bebrüten, nach Ausstrich auf Drigalski-Agar nur Coli und keinen Typhus finden. Dieser Antagonismus wurde hierauf geleugnet und behauptet, daß es sich hier nur um verschiedene Schnelligkeit des Wachstums handelt, nicht aber um echten Antagonismus. Nach unseren Erfahrungen aber mit Unrecht. 2 Stämme des B. coli, welche in der gleichen Bouillon vollkommen gleiche Wachstumsschnelligkeit zeigen, können gegenüber 2 ebenfalls gleich schnell wachsenden Stämmen des B. typhi abd. sehr verschiedene antagonistische Eigenschaften besitzen. Ein günstiger Nährboden für die Isolierung soll also nicht nur das Wachstum des gesuchten Mikroben unterstützen, sondern auch das Wachstum und hauptsächlich den Antagonismus des B. coli und anderer Mikroben stark hemmen. In diesem Sinne gehen wir jetzt auch z. B. in der mikrobiologischen Anstalt beim Aufsuchen eines günstigen flüssigen Nährbodens für Typhusstühle vor, und auch hier fanden wir in gewissen Salzen die dazu günstigsten Stoffe, wie später in einer anderen Arbeit durch Dr. Gellner publiziert werden wird. Auch in dieser Hinsicht ist Salz-Peptonwasser für das Aufsuchen von Choleravibrionen viel vorteilhafter als alkalisches. Dies ist in Tab. V gut ersichtlich.

Das wichtigste Resultat ist jedoch nicht nur der Nachweis, daß 3-proz. Salz-Peptonwasser für Cholera viel vorteilhafter als das bisher verwendete $^1/_2$-proz. ist, sondern die Feststellung der wechselseitigen Abhängigkeit zwischen dem P_H des Nährbodens und seinem Salzgehalt für das Wachstum eines bestimmten Mikroben. Heute wird schon

1) Vibrio lophotrichon ist ein Vibrio, von Kabelík so genannt wegen der Anordnung seiner Geißeln. Er wurde von Kabelík im dysenterischen Stuhl gefunden und ist wahrscheinlich identisch mit dem später aus Amerika beschriebenen und Vibrio iners benannten Vibrio, mit dem es nach der Beschreibung in allem übereinstimmt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle V.

Schwach alkalisches Peptonwasser mit verschiedenen Prozenten NaCl, geimpft mit B. coli (einem Gemisch verschiedener Stämme) und 2 Cholerastämmen. Gleich darauf eine Drahtschlinge voll überimpft auf Drigalski-Agar. Es wuchsen 20 Kolonien Coli, 12 Kolonien Cholera. Nach 8stündiger Inkubation wurde von neuem eine Drahtschlinge auf Drigalski-Agar überimpft; nach Inkubation wuchsen hierauf an Kolonien:

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
NaCl	½-proz.	1-proz.	2-proz.	3-proz.	4-proz.	5-proz.
V. cholerae	10	400	>1000	∞	∞	500
B. coli	0	3	20*)	50*)	100*)	500
Trübung nach 8 Std.	0	0	+	++	++	±

Erläuterung: In den geschlossenen Schalen mit dem Zeichen *) war es nicht möglich, die Coli-Kolonien genau festzustellen, da sie von den Cholera-Kolonien überwuchert wurden.

Nach weiteren 24 Stunden war im Peptonwasser das Verhältnis der Vibrionen zu B. coli grundsätzlich das gleiche wie nach 8 Stunden. Optimal ungefähr in Eprouvette IV.

immer regelmäßig die aktuelle optimale Reaktion eines bestimmten Nährbodens für einen gegebenen Bazillus angegeben. Auf Grund dieser Arbeit ist ersichtlich, daß dies für sich allein nicht genügt, sondern daß das optimale P_H sich nach dem Salzgehalt ändert, und umgekehrt[1]), daß also die Zusammensetzung und viele Zusätze des Bodens darauf einen Einfluß ausüben, daß also z. B. bei Bouillon die optimale Reaktion eine andere ist als beim Peptonwasser. Es ist also notwendig, bei Bestimmung der optimalen Reaktion auch auf diese Umstände zu achten und wichtig, daß es manchmal für die Erzielung des günstigen Nährbodens vorteilhafter ist, seinen Salzgehalt zu ändern als seine Reaktion[2]).

1) In seinem neuen Buche: Proteins and the theory of colloidal behavior, 1922, wirft J. Loeb, wiewohl mit Unrecht, den Kolloidchemikern vor, daß sie bei den Arbeiten mit Eiweißstoffen häufig die Rücksichtnahme auf das [H·] vernachlässigen. Nach ihm ist die ganze Kolloidchemie der Eiweißstoffe nur ein besonderer Fall der chemischen Lehre von den Gleichgewichtszuständen. Es ist angeblich möglich, z. B. die Wirkung der Salze der Hofmeisterschen Reihe mit dem durch diese Salze beim Eiweiß bewirkten verschiedenen P_H zu erklären. Obzwar dies nicht richtig ist, ist doch Loebs Hinweis auf den gegenseitigen Zusammenhang zwischen der Menge des Salzes und dem P_H der Lösungen sehr wertvoll, und unser Artikel ist dazu nur ein bakteriologischer Beitrag.

2) Nach Beendigung dieser Arbeit lasen wir ein Referat der amerikanischen Autoren Holm und Sherman (Journ. of Bact. Vol. 6. 1921. p. 511—519 im Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 58. 1923. S. 311). Diese stellten die Wirkung vieler Salze aber nur in niedrigen Konzentrationen auf das Wachstum des B. coli in Peptonwasser fest. Sie konstatierten weiter, daß schädliche Salze die Wachstumsgrenze bei verschiedenem P_H herabsetzen, die das Wachstum unterstützenden dieselbe erweitern. Sie wirken ferner am wenigsten bei der für die Mikroben optimalen Reaktion (P_H) des Nährbodens. Das Resultat stimmt also, insoweit sie sich auf dem gleichen Arbeitsfelde bewegen, mit unserer Arbeit überein. (Siehe Tab. II, hauptsächlich die ersten Reihen.)

Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Agglutination der Pfeifferschen Influenzabazillen und ihrer diagnostischen Verwertbarkeit.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Halle a./S. (Direktor: Prof. Dr. P. Schmidt).]

Von **Hildegard Lemm.**

Daß die Serumagglutination zur Diagnostik der Grippe in der Klinik bisher keinen Einlaß fand, lag an Schwierigkeiten, die sich aus der Natur des Pfeiffer-Bazillus ergeben.

Bieling weist darauf hin, daß die Beeinflußbarkeit durch das Krankenserum bei den verschiedenen Stämmen des Pfeiffer-Bazillus so wechselnd, sprunghaft und ungesetzmäßig ist, daß es bisher nicht gelungen ist, ihn serologisch als Einheit darzustellen [1]). Eine spezifische Ursächlichkeit wird daher dem Influenzabazillus bei der Grippe von vielen abgesprochen [2]) und nur eine sekundär beeinflussende Rolle ihm zugestanden.

Der Gedanke, der mich leitete, als ich mich an die Frage der Agglutination der Pfeiffer-Bazillen und ihrer diagnostischen Verwertbarkeit machte, war der, eine möglichst präzise Unterscheidung zwischen spezifisch ursächlicher und unspezifisch zufälliger Agglutination festzustellen und dadurch den Influenzabazillus serologisch in immer engeren Grenzen zu fixieren. Die Stämme, mit denen ich arbeitete, waren morphologisch teils stäbchenförmig: Stamm Abd., Stamm 77 (uns von Herrn Dr. Lewinthal, Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch", Berlin, freundlichst zur Verfügung gestellt), Stamm 77 und Stamm P. 33, den wir der Liebenswürdigkeit von Herrn Prof. Madsen, Kopenhagen, verdanken; teils kokkoid, wie der Stamm Sch., Stamm Klimtschak, Kunze und Binias, sowie Stamm 57, den wir morphologisch als pleomorph bezeichnen müssen.

Zur Klärung der Frage einer unspezifischen Agglutination untersuchte ich zunächst das Blut Gesunder auf seine Wirkung mit Pfeiffer-Bazillen. Dabei gelangte folgende Methode zur Anwendung: von 20-stünd. Hundeshagen-Kulturen wurden mittels Verreibens in physiol. Kochsalzlösung Emulsionen bereitet, aus denen alle groben Partikelchen durch Filtrieren mit Fließpapier entfernt wurden. Zu $^1/_2$ ccm der Serumverdünnung wurde immer $^1/_2$ ccm Bazillenemulsion hinzugefügt. Die Röhrchen blieben zunächst 3 Std. im Brutschrank bei 37° und wurden nach weiteren 3, und zuletzt nach 20 Std. Aufenthalt bei Zimmertemp. noch einmal abgelesen. Die Beurteilung der Röhrchen geschah mittels Seroskops. — 47 Untersuchungen an 17 gesunden Personen mit 5 verschiedenen Stämmen ergaben 12 positive Resultate, von denen nur eines den Titer 1 : 25 überschritt, das weiter unten besprochen werden soll.

Ferner wurden 14 Schwangerensera in 36 Untersuchungen mit Pfeiffer-Bazillen geprüft; davon waren 8 anscheinend positiv.

1) Dtsch. med. Wochenschr. 1920. Nr. 43.
2) Martha Wollstein, München. med. Wochenschr. 1920.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bekanntlich werden Schwangerensera gerade angeschuldigt, unspezifisch zu agglutinieren.

Diese anscheinend positiven Resultate stellten sich tatsächlich als unspezifische Agglutinationen mit einige Tage im Eisschrank aktiv aufbewahrtem Serum heraus, da in den Verdünnungen von 1:25 bis hinauf zu 1:800 gleichmäßig starke Flockung auftrat, die sich durch Schütteln etwas homogenisieren ließ. Ihre Ursache waren wohl physikalische Veränderungen der Globuline, die durch Bakterienzusatz erst in die Erscheinung traten.

Zur Vermeidung solcher unspezifischer Agglutinationen bei mehrtägiger Aufbewahrung hat sich mir das Inaktivieren bei 56° als vorteilhaft erwiesen.

Folgende Reihen zeigen den Unterschied von Seren zwischen dem Ergebnis bei aktivem und dem bei inaktiviertem Serum von 9 Blutproben, deren Serum nach mehrtägigem Transport erst verspätet zur Verarbeitung kam. In allen 9 Fällen handelte es sich um das Blut von chronischen Encephalitikern.

Stamm Sch.

a) Aktiv	9 Fälle	Titer	b) Inaktiv	9 Fälle	Titer
	2 „	—		6 „	—
	1 „	+ 1:25		2 „	+ 1:50
	5 „	+ 1:100		1 „	+ 1:100
	1 „	+ 1:800			

Stamm Abd.

a) Aktiv	10 Fälle	Titer	b) Inaktiv	10 Fälle	Titer
	1 „	—		7 „	—
	1 „	+ 1:100		1 „	+ 1:25
	1 „	+ 1:200		2 „	+ 1:50
	5 „	+ 1:400			
	2 „	+ 1:800			

Gleichzeitig mit diesen Versuchen wurde ein geprüftes Kaninchenimmunserum vom Titer 1:400 aktiv und inaktiv angesetzt. Es hielt seinen Titer beim Inaktivieren.

Ich glaube damit wahrscheinlich gemacht zu haben, daß bei spezifischer Agglutination durch das Inaktivieren das Serum seinen Titer nicht verändert, eine unspezifische Flockung aber mindestens stark herabgesetzt wird.

Wie schon oben erwähnt, beeinflußte nur ein Serum aus der Reihe der Normalsera 5 Stämme in den Verdünnungen 1:50 bis 1:200, ohne die angeführten Merkmale der unspezifischen Agglutination aufzuweisen. Eine daraufhin erhobene Anamnese ergab, daß die Betreffende 2mal in den letzten 2 Jahren Grippe gehabt hatte, seit etwa $1^1/_2$ Jahren aber völlig gesund ist.

Es ist bemerkenswert, daß hier ein Fall von höchstwahrscheinlich spezifischer Reaktion unter 17 Normalseren durch die Agglutination mittels einer größeren Anzahl von Pfeiffer-Bazillenstämmen herausgefunden werden konnte. Hatte die agglutinatorische Wirkung hier 18 Monate hindurch angehalten, wie Lewinthal in Erwägung zieht[1]), oder war die Pat. gesunde Bazillenträgerin geworden und das bloße Vorhandensein der Pfeiffer-Bazillen ohne pathogene Rolle rief eine positive Agglutination hervor?

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 86.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zur Prüfung der Dauer der agglutinatorischen Wirkung im Blut impfte ich deshalb zunächst 2 Kaninchen mit steigenden Dosen lebender Kultur intravenös und gewann durch diese Vorbehandlung 2 Immunsera vom Titer 1:400 und 1:200, wie folgt:

1) Serum Kan. Nr. 416 (vorbehandelt mit Stamm Abd.). Titer 1:400.
2) Serum Kan. Nr. 420 (vorbehandelt mit Stamm Sch.). Titer 1:200.

Gleichzeitig vakzinierte ich 2 Personen mit Pfeiffer-Bazillen, wovon die eine mit abgetöteter Kultur von Autovakzinen in steigenden Dosen von 500 bis 1000 Mill. 4mal intramuskulär gespritzt wurde, die andere mit dem Stamme einer anderen Person $^1/_2$—1 Oese lebender Kultur 4mal intramuskulär.

Der Titer belief sich im ersten Falle auf 400, im zweiten auf 100.

Eine Blutprobe, 2 Monate später den Kaninchen entnommen, zeigte beim Serum Nr. 416 (stäbchenförmiger Stamm) noch einen Titer von 1:100 (zuvor 1:400), beim Serum Nr. 420 dagegen (kokkoider Stamm) nur eine geringe Wirkung in den Verdünnungen 1:25 und 1:50. Das Serum vom kokkoiden Stamme Sch. zeigte sowohl mit dem homologen Stamm Sch. als auch mit dem heterologen Stamme 57 eine geringere Agglutination als das Serum des mit dem stäbchenförmigen Stamme Abd. vorbehandelten Tieres. Die 2 Mon. nach beendigter Vakzination den Patienten entnommenen Blutproben zeigten keinerlei Agglutination.

Zur Klärung der Agglutinine im Blute gesunder Bazillenträger stellten mir 2 Personen, Sch. und J., ihr Blut zur Verfügung. Vorgeschichte: Sch. war während der Grippepandemie 1918 an der Westfront an einer grippösen Laryngitis mit Nasen-Rachenkatarrh erkrankt. Die seitdem vorhandenen geringen katarrhalischen Erscheinungen neigen zu Exazerbationen. Wiederholte Untersuchungen des Nasensekretes ergaben stets positiven Befund des schon mehrfach erwähnten kokkoiden Pfeiffer-Bazillenstammes Sch. Die Blutprobe wurde etwa 14 Tage nach Ablauf einer fieberhaften Grippe von 8-tägiger Dauer während der neuen Grippewelle Dezember 1922 entnommen. J. erkrankte 1918 im Felde zum ersten Mal an Grippe; Rezidive harmloser Art sind einige Mal aufgetreten.

Der Stamm J. ist stäbchenförmig. Resultat, wie folgt:

1) Serum Sch.

Stamm	Titer	
	aktiv	inaktiv
Sch. kokkoid	1:25 ±	1:25 ±
Abd. stäbchenförmig	—	—
P. 33 stäbchenförmig	—	—

2) Serum J.

Stamm	Titer	
	aktiv	inaktiv
J. stäbchenförmig	1:200 ±	1:200 +
Abd. stäbchenförmig	1:50 +	1:50 +
P. 33 stäbchenförmig	1:50 +	1:50 +
Sch. kokkoid	—	—

Das Serum Sch. beeinflußte, wie ersichtlich, den homologen Stamm nur wenig, die stäbchenförmigen Stämme Abd. und P. 33 gar nicht. Das

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Serum J. agglutinierte den homologen Stamm schneller, deutlicher und in höheren Verdünnungen als die heterologen und beeinflußte den kokkoiden Stamm gar nicht. Wenn auch bindende Schlüsse aus der spärlichen Zahl von Versuchen nicht gezogen werden können, wiederholen sich doch die Tatsachen:

1) Der kokkoide Stamm hat als Antigen eine geringere und kürzer andauernde Wirkung als der stäbchenförmige.

2) Die homologen Stämme werden durch das Serum des natürlich und künstlich immunisierten Individuums besser, schneller und bis zu einer höheren Grenzverdünnung agglutiniert als die heterologen.

Da es mir außerdem bei den vorausgegangenen Untersuchungen aufgefallen war, daß eine wechselseitige Beeinflußbarkeit des stäbchenförmigen Stammes durch ein Immunserum vom kokkoiden Typ und umgekehrt nicht stattgefunden hatte, stellte ich noch weitere Versuche an:

1) 2 kokkoide Stämme, sowie den pleomorphen Stamm 57 mit dem Serum des Trägers eines kokkoiden Stammes Sch. und gleichzeitig mit dem Serum des Trägers eines stäbchenförmigen Stammes J;

2) dieselben Seren mit 3 stäbchenförmigen Stämmen.

Stämme	Serum Sch. (Typ II, kokkoid)	Serum J (Typ I, stäbchenförmig)
Sch., Typ II	1:25 +	—
Klimtschak II	1:200 +	—
57 pleom.	1:400 +	1:400 +
Stamm J, Typ I	—	1:200 +
Stamm Abd., Typ I	—	1:100 +
Stamm P 33, Typ I	—	1:50 +

Wie aus der Aufstellung klar hervorgeht, agglutiniert das Serum Sch. die kokkoiden Stämme, nicht aber die stäbchenförmigen; das Serum J. dagegen die stäbchenförmigen, aber nicht die kokkoiden Stämme.

Der pleomorphe Stamm 57 wird von beiden Seren beeinflußt.

Aehnliche Versuche wurden mit dem Serum Grippekranker angestellt und ergaben folgendes:

Bei 2 Seren von Grippekranken, deren Sputum Bazillen vom Typ I aufwiesen, positive Agglutination mit Stämmen vom Typ I, negativen Ausfall mit Stämmen vom Typ II. Z. B.:

Serum Lisowsky (Typ I) aus der 3. Krankheitswoche.

Stamm Lisowsky	I + 1:100		Stamm 77	I + 1:50	
„ Abd.	I + 1:100		„ Sch. II	—	—
„ P 33	I + 1:50				

5 Seren Grippekranker, aus deren Sputen Stämme vom Typ II gezüchtet waren, agglutinierten Stämme vom Typ II, hatten aber auf Stämme vom Typ I keinen Einfluß. Z. B.:

Serum Binias Typ II.

Stamm Sch. II	+ 1:50	Stamm Abd. I	—
„ Klimtschak II	+ 1:100	„ 77 I	—

Endlich wurden Immunsera zweier Kaninchen, die mit den Stämmen Typ I Abd. und Typ II Sch. vorbehandelt waren, auf ihre wechselseitige

1) Journ. of infect. Dis. Vol. 31.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Beeinflußbarkeit des Serums des einen durch den Stamm des anderen geprüft.

Stämme	Kaninchenserum Typ I	Kaninchenserum Typ II
Stamm Abd. I	1:400 +	—
„ Lammert, Ty I	1:25 +	1:25 +
„ 77, Typ I	1:100 +	1:25 +
„ Sch., Typ II	—	1:100 +
„ Klimtschak, Typ II	1:25 +	1:200 +
„ Bebach, Typ II	—	1:100 +

Das Resultat war in diesem Falle kein so eindeutiges, wie bei den vorangegangenen Untersuchungen, doch war auch hier eine Beeinflußbarkeit des Stammes Typ II durch das Serum vom Typ I über die Verdünnung 1:25 hinaus nicht nachweisbar, ein Titer, der von Gottschalk als die Norm kaum überschreitend angesehen wird[1]).

Trotz der verhältnismäßig kleinen Zahl von Fällen hat es doch den Anschein, als fände eine wechselseitige Beeinflußbarkeit der beiden Haupttypen als Antigen durch die von ihnen im Körper des Kranken erzeugten Antikörper nicht statt[2]), als spiele die pleomorphe Degenerationsform eine vermittelnde Rolle, indem sie durch die Immunsera beider Typen beeinflußt wird.

Zusammenfassung.

1) Die Seren Gesunder beeinflussen den Influenzabazillus nicht über die Verdünnung 1:25 hinaus. — 2) Die Grenzverdünnung 1:25 ist diagnostisch nicht verwertbar. — 3) Eine Neigung der Schwangerensera zu unspezifischer Agglutination ist nicht nachweisbar. — 4) Mehrere Tage lang aktiv aufbewahrtes Serum neigt zur unspezifischen Agglutination. — 5) Es scheint, als ob die aktive Aufbewahrung des Serums mit Blutkuchen diese Neigung verstärke. — 6) Diese Wirkung wird abgeschwächt, beziehungsweise aufgehoben durch das Inaktivieren bei 56°. — 7) Die Agglutinine im Blute künstlich immunisierter Tiere halten sich bei den verschiedenen Stämmen verschieden lange. — 8) Es scheint, als ob der kokkoide Stamm als Antigen eine geringere und kürzere Zeit andauernde Wirkung habe, als der stäbchenförmige. — 9) Die homologen Stämme werden durch das Serum immunisierter Individuen schneller, besser und bis zu einer höheren Grenzverdünnung agglutiniert als die heterologen. — 10) Auch in den von mir untersuchten 2 Fällen von Bazillenträgern fand Agglutininbildung statt, bei dem stäbchenförmigen Stamm ausgesprochener als beim kokkoiden. — 11) Eine wechselseitige Beeinflußbarkeit der beiden Haupttypen als Antigen durch die von ihnen erzeugten Antikörper findet scheinbar nicht statt. — 12) Es scheint also, als ob eine serologische Typenbildung für Pfeiffer-Bazillen vorhanden wäre, wie Lewinthal sie morphologisch aufstellt.

1) Klin. Wochenschr. 1922.
2) Lewinthal, Zeitsch. f. Hyg. 1922.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen an russischen Paratyphusstämmen.

[Aus der Bakteriologischen Zentrale des Deutschen Roten Kreuzes zu Moskau und dem bakteriologischen Laboratorium des Deutschen Rotkreuz-Krankenhauses (Alexanderhospital) zu Petersburg.]

Von **Theobald Sütterlin.**

Im Verlaufe der Recurrensepidemie der Jahre 1920/22 beobachtete man in Rußland an verschiedenen Orten schwere septikämische Erkrankungen mit Komplikationen von seiten des Darmes und der Leber, die große Aehnlichkeit mit dem Griesingerschen Typhoid hatten. Dieses schwere, meist im Zusammenhang mit einer Recurrenserkrankung auftretende oder an sie anschließende, von seinem sonst so harmlosen Verlaufe abweichende Krankheitsbild wurde von verschiedenen russischen Autoren (11, 14, 22) zur Grundlage ihrer Veröffentlichungen gemacht, und als erste haben Kulescha und Iwaschenzoff (5, 6, 24) darüber berichtet.

Iwaschenzoff und Rapaport (7) sind der Aetiologie dieser Komplikation nachgegangen, und es ist ihnen gelungen, fast in allen Fällen aus dem Stuhl, Urin und Blut oder aus den Leichenorganen solcher Kranken ein paratyphusähnliches Stäbchen zu züchten, das Iwaschenzoff wegen seines abweichenden serologischen Verhaltens gegenüber den bekannten Paratyphusarten „Paratyphus N“ nennt. Er fügt also auf diese Weise der großen Paratyphusgruppe ein neues Mitglied zu; wieweit er dazu berechtigt war, ließ sich, als wir zum 1. Male anläßlich seines Vortrages im Dezember 1921 in Moskau davon hörten, noch nicht übersehen, da er infolge der gänzlichen Abgeschlossenheit der russischen Wissenschaft von der westeuropäischen Literatur der letzten 5 Jahre nichts von ähnlichen während des Weltkrieges gemachten Funden wissen konnte.

So trat bei uns gleich der Verdacht auf, daß es sich bei diesem Stäbchen um dasselbe handeln werde, worüber Neukirch (1, 2) aus Kleinasien und Mac Adam (3) aus Bagdad berichtet hatten (Diskussionsbemerkung von Zeiss zum Vortrag von Iwaschenzoff). Allerdings mußte dabei der Umstand stutzig machen, daß diese in Rußland beobachteten Komplikationen mit den sie hervorrufenden Stäbchen stets nur bei einer oder im Anschluß an eine Recurrenserkrankung auftraten, und zwar sollte es sich, nach Ansicht Iwaschenzoffs, dabei ausschließlich um Leute handeln, die aus den Hungergebieten an der Wolga kamen; unter seinen Petersburger Kranken lieferten ihm immer nur Flüchtlinge aus jenen Gegenden den Erreger. Er unterschied dabei bald 2 Arten von „Paratyphus N“, die sich allerdings nur serologisch gegeneinander abgrenzen ließen, insofern als die Seren der mit dem einen Stamme infizierten Patienten nur diesen, nicht aber den des anderen Erkrankten agglutinierten.

Infolge der Liebenswürdigkeit von Dr. Iwaschenzoff erhielt das Moskauer Zentrallaboratorium des Deutschen Roten Kreuzes je 1 Stamm

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der beiden Gruppen zur Verfügung gestellt und noch einen 3., den Professor Marzinowski (13) vom Moskauer Tropeninstitut bei denselben Erkrankungen herausgezüchtet hatte.

Im Juli 1922 erkrankte nun ein Westeuropäer, ein Engländer von der Nansen-Mission, im Anschluß an eine Reise in die westlichen Provinzen Rußlands (Smolensk, Witebsk, Minsk) an influenzaartigen Erscheinungen mit Stuhlverstopfung und hohem Fieber bis 40°. Dieser Zustand dauerte etwa 8—10 Tage und war teilweise von fieberfreien Stunden unterbrochen. Aus seinem Blute züchtete Dr. Zeiss ebenfalls ein paratyphusähnliches Stäbchen, das nicht vom Serum des Patienten, aber von einem Paratyphus B-Serum bis zum Endtiter 1:3000 agglutiniert wurde. Auch alle übrigen von uns benutzten Typhus- und Paratyphusstämme blieben vom Patientenserum unbeeinflußt. Weder Rückfallfieber, noch irgendeine andere Infektionskrankheit war vorangegangen.

Im Laufe des Sommers 1922 nahmen mit den Recurrenserkrankungen auch die Komplikationen ab, um erst mit Beginn des Winters 1922/23 von neuem wieder aufzuflackern. Es ergibt sich nun die merkwürdige Erscheinung, daß die Recurrensepidemie dieses Winters weniger die ebengenannten septikämischen, typhusähnlichen Erscheinungen aufweist, sondern sich hauptsächlich durch Bildung von Abszessen und Exsudaten auszeichnet, also in das Gebiet des Chirurgen übergegangen ist (8—10, 15, 18—21, 23). Ueberall lassen sich aus solchen Herden nach Mitteilung der russischen Kliniker die genannten Stäbchen züchten (12, 16, 17), und zwar handelt es sich vorwiegend um den sogen. Typus N_1. 2 Stämme dieser Art, die in diesem Winter aus einem Abszeß der Synchondrosis sacroiliaca und einem Pleuraexsudat von 2 Rückfallfieberkranken gezüchtet wurden (Troizki-Krankenhaus, Dr. Hesse), stellte uns ebenfalls Dr. Iwaschenzoff zur Verfügung.

Zu diesen 6 in Rußland gefundenen Stämmen kamen nun noch 6 im Rajchmannschen Institut zu Warschau bei denselben Erkrankungen gezüchtete Stämme hinzu, über die Anigstein und Milinska (4) in einer polnischen Arbeit berichten. Es handelt sich um Fälle, die im Herbst 1920 in den östlichen Teilen Polens in der Gegend von Rowno unter der Militär- und Zivilbevölkerung aufgetreten waren, und bei denen teils aus Blut, teils aus Urin Bakterien gezüchtet wurden. Diese Stämme verdanken wir Professor Mühlens, der sie von der Warschauer Tagung der hygienischen Völkerbundssektion mitbrachte.

Wir stellten uns nun die Aufgabe, diese 12 Stämme auf ihr biologisches und serologisches Verhalten hin zu untersuchen und namentlich ihre etwaige Identität mit Glässer-Voldagsen, bzw. dem von Neukirch entdeckten Erzindjan-Stamme festzustellen. Dabei können vorerst 5 von den 6 Warschauer Stämmen außer acht gelassen werden.

Die 6 russischen Stämme (I—VI in der Tabelle) und der 1 Warschauer (VII) sind kurze, teils feine, teils plumpere Stäbchen, doch kommen auch lange Fäden vor, teilweise liegen sie auch nur zuzweit hintereinander. Sie sind lebhaft eigenbeweglich, peritrich begeißelt, mit den üblichen Methoden leicht färbbar und gramnegativ.

In ihrer Anforderung an Nährböden und ihrem Wachstum auf den Spezialnährböden verhalten sie sich genau wie Paratyphus B und sind darin von den zum Vergleich herangezogenen Paratyphus B-, Enteritidis Gärtner-, Glässer-Voldagsen- und Erzindjan-Stämmen unseres Laboratoriums nicht zu unterscheiden. Vielleicht wird Bouillon etwas stärker getrübt, und der Farbenumschlag der anfangs

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

geröteten Lackmusmolke erfolgt schneller. Wallbildung ist nicht deutlich ausgeprägt, ein „Rutschen“ auf Schräggelatine nicht zu beobachten.

Anders verhalten sich dagegen diese Stämme bei der serologischen Prüfung mit den uns zur Verfügung stehenden Typhus-, Paratyphus A- und B-, Enteritidis Gärtner-, Enteritidis Breslau-, Glässer-Voldagsen, und Erzindjan-Neukirch-Serum (sämtlich aus dem Reichsgesundheitsamt zu Berlin). Mit den ersten 5 der eben genannten Seren geben sie entweder gar keine oder nur die üblichen Gruppenagglutinationen, dagegen werden sie alle, mit Ausnahme des Warschauer, des 2. Petersburger und des Marzinowskischen Stammes von den Glässer-Seren, am besten vom Erzindjan-Serum agglutiniert. Danach handelt es sich bei diesen 4 Stämmen (I, IV—VI) also höchst wahrscheinlich um denselben Stamm, den Neukirch bereits 1915 in Kleinasien gefunden hatte. Es fehlt allerdings, namentlich beim Stamm IV, der ja auch vom Paratyphus B-Serum bis zur Titergrenze agglutiniert wurde, die Gegenprobe, nämlich die Agglutination eines Erzindjan-Stammes mit den betreffenden Krankenseren oder einem hochwertig agglutinierenden Serum von den in Rußland gefundenen Stämmen. Solche standen uns leider nicht zur Verfügung; nur ein Krankenserum von der 1. Art des Petersburger Stammes konnte zur Differenzierung mitherangezogen werden. Von diesem wurden außer seinen 3 eigenen Stämmen (I, V, VI) auch noch der Glässer-Voldagsen-Stamm unseres Laboratoriums, der Marzinowskische (III), der Zeisssche (IV) und der Warschauer (VII) bis zur Titergrenze agglutiniert. Es sind nachträglich keine klinischen Angaben über den Patienten zu erhalten, bei dem der N_2-Stamm isoliert worden war. Auch der Marzinowskische Stamm, für den ebenfalls die klinischen Angaben fehlen, und der von gar keinem unserer Seren agglutiniert wurde, kann wohl nicht ohne weiteres in die Glässer-Reihe eingerechnet werden.

Man ist jedoch, wie man uns auch mehrfach persönlich mitteilte, in Petersburg der Ansicht, daß es sich bei diesen nur agglutinatorisch voneinander zu unterscheidenden Stämmen — es ließ sich allmählich außer den Typen 1 und 2 noch eine ganze Reihe weiterer Unterstämme abgrenzen — die alle dasselbe klinisch genau umschriebene Krankheitsbild hervorrufen, um ein und denselben Erreger handelt, nämlich um den Erzindjan-Stamm Neukirchs, d. h. Bacterium paratyphi B (Typ Glässer-Voldagsen, Stamm Erzindjan). Eine besondere Benennung dieses Erregers als „Paratyphus N“ ist daher nicht mehr angängig.

Die übrigen 5 Warschauer Stämme (VIII—XII) weichen nicht nur morphologisch von den eben beschriebenen russischen ab — plump und weniger beweglich — sondern sind auch in ihrem Wachstum auf den Spezialnährböden so unbeständig, daß sie nicht in den Rahmen dieser Gruppe mit hineinpassen. Sie wachsen z. B. auf Chinablau-Malachitgrün-Agar teilweise blau und auf Endo-Agar dunkelrot (X—XII), auf Drigalski-Agar rot (XI, XII) und vergären Saccharose (VIII—X), Eigenschaften, die sich teilweise erst nach längerer Weiterzüchtung herausstellten, oder wieder verschwanden. Auch auf Grund der bei uns festgestellten serologischen Eigenschaften muß eine Uebereinstimmung mit den russischen Stämmen oder denen vom Typ Glässer abgelehnt werden. Sie wurden von keinem dieser Seren agglutiniert, dagegen gaben sie mit den übrigen geprüften Seren derartig wechselvolle Ergebnisse, daß irgendeine klare Abgrenzung in eine besondere Gruppe uns

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lfde. Nummer	Stämme	Paratyphus B-Eselserum 1:3000		Enteritidis-Gärtner-Eselserum 1:3000		Enteritidis Breslau Eselserum 1:10 000		Glässer Kaninchenserum 1:10 000		Voldagsen-Eselserum 1:3000		Erzindjan Neukirch Kaninchenserum 1:10 000		N_1-Patientenserum 1:800	
		n. 2 St.	n. 24 St.	n. 2 St.	n. 24 St.	n. 2 St.	n. 24 St.	n. 2 St.	n. 24 St.	n. 2 St.	n. 24 St.	n. 2 St.	n. 24 St.	n. 2 St.	n. 24 St.
I	Paratyphus N_1 (Petersburg)	—	800 ±	—	—	—	—	100 ±	400 ±	—	—	100 ±	6 400 ±	800 +	1600 ±
II	Paratyphus N_2 (Petersburg)	1600 ±	3200 ±	3200 ±	3200 ±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
III	Paratyphus N (Marzinowski, Moskau)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	800 ±	1600 ±
IV	Zeiss(RK. Laborat. Moskau)	1600 ±	3200 +	—	—	100 ±	400 +	400 ±	800 +	800 ±	800 +	1 600 ±	3 200 +	800 ±	1600 +
V	Paratyphus N_1 (Petersburg, chir.)	—	—	—	—	—	—	3200 +	12 800 ±	3200 +	3200 +	12 800 +	12 800 +	400 ±	800 +
VI	Paratyphus N_1 (Petersburg, chir.)	—	—	—	—	—	—	3200 +	3 200 +	1600 +	3200 +	6 400 +	12 800 +	400 ±	400 +
VII	Anigstein (Warschau 14)	—	50 ±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	400 +	1600 ±
VIII	Anigstein (Warschau 20)	1600 +	1600 +	100 +	100 +	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
IX	Anigstein (Warschau 21)	800 +	1600 +	100 +	200 +	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
X	Anigstein (Warschau 23)	—	50 ± 100 ±	—	100 ± 200 ±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
XI	Anigstein (Warschau 24)	100 +	200 ±	—	50 +	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
XII	Anigstein (Warschau 61)	—	—	—	50 ±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	200 ±

Erläuterung: Es sind immer nur die Endverdünnungen angegeben, mit denen noch eine sichere (+) oder fragliche (±) Agglutination erfolgte. Ist nur die fragliche angegeben, so bedeutet dies, daß die nächste darunterliegende doppelte Konzentration noch sicher positive Agglutination ergab. Die Röhrchen standen 2 Std. im Brutschrank und dann 22 Std. bei Zimmertemperatur. Die Ablesung geschah mit bloßem Auge.

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Digitized by Google
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nicht möglich war. Anigstein gibt an, daß sie in über 90 Proz. seiner sämtlichen Fälle (über 250) von Stanley-Serum bis zu 1:6400 agglutiniert worden seien. Interessant ist jedenfalls die Tatsache, daß der einzige, der Erzindjanreihe nahestehende Vertreter dieser Warschauer Stämme (VII) bei einem russischen Flüchtling aus dem Wolgagebiet gefunden wurde.

Wir sind uns bewußt, nur den kleineren Teil zur Klärung dieser Frage beigetragen zu haben; die ungleich interessanteren Kapitel sind die der Klinik und Epidemiologie. Der Erreger, durch heimkehrende russische Soldaten von der kleinasiatischen Front zur Wolga verschleppt (die deutschen Kolonisten wurden während des Weltkrieges aus politischen Gründen fast nur an der russischen Kaukasusfront und in Anatolien verwandt), wandert zweifellos in ostwestlicher Richtung. Er wurde im Bürgerkriege und im Kriege zwischen Rußland und Polen 1920 nach Polen gebracht, und bedroht nun, infolge des Zustroms von Hungerflüchtigen, bereits in Petersburg seßhaft, auch das westliche Europa.

Die vorstehende Tabelle veranschaulicht die Agglutinationsergebnisse mit den wichtigsten Seren. Außer mit diesen wurde auch noch mit Typhus-, Paratyphus A- und den 3 Ruhrseren gearbeitet, die jedoch gar keine oder nur eine ganz geringe Agglutination hervorriefen.

Zusammenfassung.

Es wurden 12 Stämme, die bei Recurrenskomplikationen sowohl septikämisch-typhöser als auch lokal entzündlicher Natur aus Stuhl, Urin, Blut, Eiter und Leichenorganen in Rußland und Polen während der letzten 3 Jahre gezüchtet wurden, und 1 Stamm aus dem Blute eines leicht typhös im Anschluß an eine Reise in Westrußland spontan erkrankten Westeuropäers serologisch und kulturell miteinander verglichen. Es konnten dabei folgende Gruppen voneinander abgetrennt werden:

1) solche Stämme, die in ihrem Wachstum zu unbeständig sind, als daß sie zur Paratyphus B-Gruppe gerechnet werden könnten, und deren serologisches Verhalten dagegen spricht: 5 der 6 Warschauer Stämme;

2) solche Stämme, die sich kulturell wie Paratyphus B verhalten. Bei ihnen ist zu unterscheiden: a) Stämme, die vom Erzindjanserum bis zur Titergrenze agglutiniert wurden: 2 sogenannte Paratyphus N_1-Stämme, — b) Stämme, die vom Erzindjanserum mehr als oder ebenso wie vom Paratyphus B-Serum agglutiniert wurden: ein sogenannter Paratyphus N_1-Stamm und der Stamm Zeiss, — c) Stämme, die mit keinem der untersuchten Seren eine hervortretende Agglutination ergaben, aber von einem N_1-Krankenserum stark agglutiniert wurden: Paratyphus N-Stamm Marzinowski und Warschau 14, — d) ein Stamm, der nur vom Enteritidis-Gärtner-Serum bis zur Titergrenze agglutiniert wurde: der sogenannte Paratyphus N_2-Stamm.

Die Bezeichnung „Paratyphus N-Bazillose“ ist nach Festlegung aller dieser Punkte nicht mehr angängig.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literatur.

Ein großer Teil der unten aufgeführten russischen Literatur ist im Zentralorgan f. d. ges. Chir. in den beiden letzten Jahren referiert worden. Vgl. auch Referat Mühlens u. Nauck über den VI. allrussischen Bakteriologenkongreß im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 74. 1922. Heft 1—2.

1) Neukirch, Ueber menschliche Erkrankungen durch Bazillen der Glässer-Voldagsen-Gruppe in der Türkei. (Zeischr. f. Hyg. Bd. 85. 1917.) — 2) Ders., Ueber Paratyphusbakterien im Blut bei Ruhrerkrankungen in der Türkei. (Berl. klin. Wochenschr. 1917. Nr. 15.) — 3) Mac Adam, W., Note on a small outbreak of lobar pneumonia in Bagdad due to a bacillus of the Gaertner-Paratyphoid group. (Indian Journ. of Med. Res. Special Indian Science Congress-Number 1919. (Zit. n. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg.) — 4) Anigstein u. Milinska, Untersuchungen über das paratyphöse Gelbfieber. Warschau 1921. [Poln.] — 5) Kulescha, Pathologische Anatomie und Aetiologie der Rückfallfieberkomplikationen. (Verh. d. Pathol. Gesellsch. in Petersburg. 11. 1920.) — 6) Ders., Pathologische Anatomie und Aetiologie der Rückfallfieberkomplikationen. (Verh. d. Gesellsch. f. inn. Med. 31. Jan. 1921 u. Wratschebnaja Gazeta. 1922. 3/6. [Erscheint deutsch in Virch. Arch.] — 7) Iwaschenzoff u. Rapaport, N-Paratyphobazillose. (Festschr. f. Prof. Netschajeff I u. Wratschebny Jurn. 1922. 2.) — 8) Tigi, Bakteriurie bei der N-Paratyphobazillose. (Verhandl. d. Gesellsch. f. inn. Med. 31. Jan. 1922.) — 9) Beljawzew, Jelissejew u. Krugloff, Typhöse Perichondritiden. (Kubanski med. Jurn. 1921. 2—4.) — 10) Boorü, Zur Aetiologie der Perichondritis nach Rückfallfieber. (Wissensch. Sitzg. d. bakt. Inst. in Ssaratow. 1921.) — 11) Hermann u. Bessonowa, Zur Charakteristik des N-paratyphösen Stäbchens. (Westnik f. Mikrobiol. u. Epidemiol. 1922. 3. Ssaratow.) — 12) Spasske, Einige Befunde über bakteriologische Untersuchungen des biliösen Typhoids. (Verhandl. des VI. Bakt. Kongr. in Moskau. 1922.) — 13) Marzinowski, Eine neue typhusähnliche Erkrankung. (Ebenda.) — 14) Woronina, Septische typhusartige Erkrankung, hervorgerufen durch ein bipolares Stäbchen. (Ebenda.) — 15) Linberg, Affektion der Rippenknorpel nach Rückfallfieber. [Diss.] Ssaratow 1922. — 16) Lawrinowitsch u. Alissow, Die Bakteriologie der bazillären Komplikationen des Rückfallfiebers. (Verhandl. d. Ges. f. inn. Med. 27. Juli 1922. u. Wratschebnoje Delo. 1922.) — 17) Braun u. Lawrinowitsch, Zur Klinik der bazillären Rückfallfieberkomplikationen. (Ebenda.) — 18) Arsenjeff, Beobachtungen über Gelenkveränderungen bei Rückfallfieber und Paratyphobazillose. (Verhandl. d. Kongr. f. inn. Med. in Petersburg. Sept. 1922.) — 19) Hesse, Erkrankungen der Synchondrosis sacroiliaca nach Paratyphus-Erzindjan nach Rückfallfieber. (Verhandl. d. russ. chir. Pirogoff-Gesellsch. 14. Juni 1922.) — 20) Ders., Chirurgie des Fleckfiebers, Rückfallfiebers und N-Paratyphus. (Verhandl. d. XV. Kongr. d. russ. Gesellsch. f. Chir. u. Westnik Chirurgii. 3. 1923. [Ersch. demn. auch deutsch.] — 21) Chrisanowski, Zur Klinik des Rückfallfiebers und dessen Komplikationen nach den Angaben des Ssemenoff-Militärkrankenhauses. (Prot. d. Sitz. d. Gesellsch. d. Marine- u. Militärärzte. 15. Juni 1922.) — 22) Brodski, Epidemie der Paratyphobazillose in Rostow. (Medizinskaja Myssl. 1922. 17—18.) — 23) Ssokoloff, Der chirurgische N-Paratyphus auf Grund der Daten des St. Trinitatiskrankenhauses und des Gefängniskrankenhauses in Petersburg. (Verhandl. d. russ. chir. Pirogoff-Gesellsch. 1923.) — 24) Wituschinsky, Die pathologische Anatomie der paratyphösen Nachkrankheiten des Recurrens. [Inaug.-Diss.] Petersburg 1923.

Nachdruck verboten.

Zur Unterscheidung der Streptokokken und Pneumokokken.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau (Direktor: Geh. Med.-Rat Professor Dr. R. Pfeiffer) und dem Staatlichen Medizinal-Untersuchungsamt zu Breslau (Direktor: Professor Dr. J. Kathe).]

Von Dr. **Herbert Presting,**

Assistenzarzt am Staatlichen Medizinal-Untersuchungsamt zu Breslau.

Alle Versuche einer Artbestimmung innerhalb der Gruppe der Streptokokken und Pneumokokken haben mit der großen Veränderlichkeit der Eigenschaften zu kämpfen, die bei Fortzüchtung dieser Kokken

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auf künstlichen Nährböden in Erscheinung tritt. So werden auch bei Verwendung von Blutnährböden, wie sie seit Schottmüllers Entdeckung in mannigfacher Zusammensetzung zur Unterscheidung von Streptokokken und Pneumokokken in Gebrauch gekommen sind, Fälle bemerkt, in denen die zu beobachtende Veränderung der Blutnährböden über die wahre Zugehörigkeit der untersuchten Stämme zu der einen oder anderen der nach Schottmüller benannten Arten im Zweifel läßt, oder — wie gelegentlich vergleichende Untersuchungen bei der Fortzüchtung aufdecken — sogar täuschen kann. Bei Beurteilung solcher Fälle muß daran erinnert werden, daß im Gegensatze zu der Anschauung Schottmüllers, der Uebergänge hämolytischer Streptokokken in solche vom Viridans-Typus ohne Hämolyse oder umgekehrt für nicht erwiesen hält, andere Untersucher bei neuartiger Versuchsanordnung Ergebnisse gewonnen haben, wonach Uebergänge „einiger" hämolytischer Streptokokken in grünwachsende Formen als sicher betrachtet werden. In Uebereinstimmung mit den Angaben früherer Autoren hebt auch Bieling in seiner vor 2 Jahren erschienenen Arbeit „Methoden zur Differenzierung der Streptokokken und Pneumokokken" hervor, wie starken Schwankungen das hämolytische Vermögen auf der Schottmüllerschen Blutplatte ausgesetzt sei; die Artbestimmung der Streptokokken lediglich nach ihrem Verhalten auf Blutagar könne mithin zu Irrtümern führen. Die durch solche Variabilität der Stämme bedingten Fehlresultate glaubt Bieling bei Verwendung geeigneter Differentialnährböden vermeiden zu können; als solche beschreibt er den Blutwasseragar und den Blutwasseroptochinagar und gibt weiterhin den Kochblutagar sowie die Proben mit taurocholsaurem Natrium und Optochin als scharfe und brauchbare biologische Hilfsmittel an.

Das Verhalten von Streptokokken und Pneumokokken auf den von Bieling angegebenen Differentialnährböden habe ich an 60 Stämmen nachgeprüft, die zu diesem Zwecke frisch aus Erkrankungsfällen vom Menschen isoliert worden waren. Die Hälfte der untersuchten Stämme ist aus Sekretabstrichen der Rachenorgane von Personen gewonnen, bei denen der Verdacht auf Diphtherie, Scharlach und Meningitis vorlag; die übrigen wurden aus dem Auswurfe von Pneumonie- und Grippekranken, aus pleuritischen Exsudaten, ferner aus dem Blute, aus Eiter, Cerebrospinalflüssigkeit, schließlich aus dem Tränensacke und von einem Ulcus serpens gezüchtet.

Von den frisch gewonnenen Kulturen wurden einheitlich in Ascitesbrühe gleicher Zusammensetzung Reinzuchten angelegt, diese nach 24 Std. bei 37° C hinsichtlich ihrer Morphologie und ihres Verhaltens zur Gramfärbung, zu Rindergalle und taurocholsaurem Natrium geprüft. Danach wurden sie auf Platten von 10-proz. Pferdeblutagar, 10-proz. Hammelblutagar, Pferdeblut-Kochblutagar, Pferdeblut-Blutwasseragar und Pferdeblut-Blutwasseroptochinagar übertragen (der Hammelblutagar wurde wegen seiner größeren Empfindlichkeit gegenüber hämolytischen Einflüssen in diese Reihe eingestellt). Nachdem die Blutnährböden 24 Std. lang im Brutschranke belassen worden waren, wurden die Ergebnisse abgelesen, danach die Platten zur Prüfung etwaiger weiterer Veränderungen wieder bei 37° C gehalten. Da auf jeder Platte 2 Stämme nebeneinander ausgestrichen waren, boten ihre Kulturen geeignete Vergleichsmöglichkeiten.

Der Pferdeblutagar und die Differentialnährböden wurden stets mit

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

frischem, steril durch Venenstich gewonnenem, defibriniertem Pferdeblute hergestellt. Bei ihrer Zubereitung hielt ich mich streng an Bielings Vorschriften:

Kochblutagar. 3-proz. Agar und 1-proz. Pepton werden zum Kochen erhitzt, mit 15-proz. defibrinierten Pferdeblut gemischt und sofort von der Flamme abgesetzt. Nach Abkühlen auf etwa 50—60° wird der schokoladenbraune Niederschlag gut aufgeschüttelt und die fein verteilte Mischung zu Platten gegossen.

Nach dieser Anweisung gewann ich einen gleichmäßigen, undurchsichtigen, hell-schokoladenbraunen Agar.

Blutwasseragar. Ein Teil Pferdeblut wird mit zwei Teilen destillierten Wassers gemischt und die klare Flüssigkeit mit gleichen Teilen verflüssigten, auf 60° abgekühlten Agars gemischt. Der Agar enthält zweckmäßig 2 Proz. Traubenzucker.

Der fertige, insgesamt 1 Proz. Traubenzucker enthaltende Nährboden war klar, durchsichtig und von dunkel-rubinroter Farbe.

Blutwasseroptochinagar. 1) Optochin. hydrochloric. 0,1 in Aqua dest. 10,0 aufgekocht. (Soll nicht länger als 3 Tage aufgehoben werden.)

2) 1,0 Optochinlösung I (1:100) + 150 ccm flüssiger, 3-proz. Agar.

3) 60 ccm Pferdeblut + 90 ccm Wasser bei 60°, 2) und 3) werden bei einer Temperatur von 60° zu gleichen Teilen gemischt.

Man erhält 300 ccm fertigen Blutwasseroptochinagar.

Dieser Blutwasseroptochinagar war durchsichtig, braunrot, ein wenig gesättigter im Farbenton als der vorher beschriebene Blutwasseragar, von dessen Zusammensetzung er sich durch größeren Blutgehalt ($^1/_5$ statt $^1/_6$) und den Optochingehalt von 1:30000 unterscheidet.

Die Bestimmung der von mir untersuchten Stämme erfolgte auf Grund ihres Verhaltens zur Gram-Färbung und der allgemein für die Unterscheidung geltenden morphologischen und kulturellen Merkmale. Für die Benennung der Pneumokokken und ihre Abgrenzung gegen die Viridans-Streptokokken war der Ausfall der Proben mit Rindergalle und taurocholsaurem Natrium von Bedeutung. Auch konnte die Bildung von Kapseln im Herzblute infizierter Mäuse bei einigen fraglichen Kokken als charakteristisches Merkmal verwertet werden. Von der Beurteilung der Virulenz mußte jedoch abgesehen werden, da geeignete Tierversuche nicht angestellt wurden; serologische Prüfungen wurden ebenfalls unterlassen. Wenn es mit den beschriebenen Hilfsmitteln in der Mehrzahl der Fälle gelang, die Stämme nach Schottmüllerschen Typen zu benennen, so begegnete doch ihre Einordnung gelegentlich Schwierigkeiten. Denn bei einer Anzahl von Kulturen wurden, wie später gezeigt werden soll, einige der für die angewandten Nährböden als charakteristisch beschriebenen Artmerkmale vermißt. In solchen Fällen, wo Stämme auf den einen oder anderen der Nährböden von ihrem typischen Verhalten abwichen, gewann das Gesamtbild ihrer Kulturen auf der ganzen Nährbodenreihe ein größeres Interesse. Für ihre Benennung konnte jedoch bei Verwendung der Schottmüllerschen Einteilung neben charakteristischen morphologischen Eigenschaften nur das Verhalten der untersuchten Stämme auf Blutagar von entscheidender Bedeutung sein. Mit Rücksicht auf ihre Variabilität bezeichnete ich also solche, die in Ascitesbrühe mit langen verschlungenen Ketten, auf Pferdeblutagar oder Hammelblutagar mit typischen hämolytischen Höfen wuchsen, als hämolytische Streptokokken, — andere, die in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aszitesbrühe mehr starre, kürzere oder längere Ketten bildeten, auf Pferdeblutagar oder Hammelblutagar Kolonien mit grünen Höfen aufwiesen und deren Kulturen durch Rindergalle oder taurocholsaures Natrium nicht gelöst wurden, als Viridansstreptokokken.

Danach waren von den 60 Stämmen, deren Kulturen sich bei der Färbung nach Gram sämtlich positiv verhielten, 18 hämolytische Streptokokken, 27 grünwachsende Streptokokken; 12 Stämme wurden als Pneumokokken, 2 als Streptococcus mucosus bezeichnet; bei 1 Stamme war die Einreihung fraglich, er wird als Diplostreptococcus beschrieben werden.

Die untersuchten Stämme verhalten sich auf Bielings Kochblutagar, Blutwasseragar und Blutwasseroptochinagar folgendermaßen:

Kochblutagar.

Artbezeichnung	Zahl der untersuchten Stämme	typisch	atypisch
Streptococcus longus haem.	18	18	—
Streptococcus viridans	27	26	1 (vergrünt nicht)
Pneumococcus	12	12	—
Streptococcus mucosus	2	2	—
fragl. Diplostreptococcus	1	—	1 (2 Kolonieformen)

Die auf Blutagar hämolytischen Streptokokkenstämme wachsen auf Kochblutagar in kleinen, saftigen, zartgrauen Kolonien, kaum halb so groß wie auf Blutagar; eine sichtbare Veränderung des Nährbodens tritt nicht ein. Dieses charakteristische Verhalten zeigen alle untersuchten hämolytischen Stämme.

Die Viridansstreptokokken wachsen auf dem braunen Nährboden in saftigen, grünlichen Kolonien, umgeben von einer verhältnismäßig breiten, gelbgrünlichen Zone. Die Kolonien werden durchschnittlich zwar nur halb so groß wie auf Blutagar, doch tritt die Verfärbung des Nährbodens in der Regel zeitiger als auf Blutagar ein. Deutlich grünes Wachstum zeigen auch 5 Stämme, die sich zwar auf Hammelblutagar wie Viridans-Streptokokken verhalten, aber auf Pferdeblutagar keine Veränderung, auch keine Grünfärbung hervorbringen (Nr. 30, 32, 33, 34, 39).

Die Pneumokokken tragen auf Kochblutagar die gleichen Merkmale wie die Viridans-Stämme; verwertbare Unterschiede in Form und Wachstum ihrer Kolonien gegenüber denen der grünenden Streptokokken lassen sich nicht auffinden. Die typische Grünfärbung zeichnet auch den Pneumokokkenstamm Nr. 50 aus, der bemerkenswerterweise auf Pferdeblutagar (nicht auf Hammelblutagar!) mit charakteristischen hämolytischen Kolonien wächst.

Bei den beiden Stämmen von Streptococcus mucosus kommt zu dem grünen Wachstume das Merkmal der Schleimbildung hinzu; sie zeigen auf der Kochblutplatte auf leuchtend grün verändertem Untergrunde zu saftigen Beeten zusammengeflossene, fadenziehende Kolonien, die von schmalen, grünen Säumen umschlossen werden.

Bemerkenswerte Erscheinungen werden bei dem Stamme Nr. 58 beobachtet, der aus dem Liquor cerebrospinalis eines nach Mittelohrentzündung an Meningitis Erkrankten isoliert wurde. In Ausstrichen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des Liquorsedimentes finden sich neben erheblichen Leukozytenmengen grampositive, kapselbildende Diplostreptokokken, die den Pneumokokken sehr ähnlich sehen. Im hängenden Tropfen der Ascitesbrühekultur finden sich Diplokokken und längere Ketten von lanzettförmigem Korn. Die hiervon auf Pferdeblutagar angelegte Kultur wächst zu auffallend saftigen, zusammenfließenden Kolonien ven graugrüner Farbe aus, die von einer schmalen Aufhellung des Agars umsäumt werden; Schleimbildung oder Fadenziehen beim Abstreichen der Kolonien wird vermißt. Eine große Oese der Blutagarkultur löst sich in taurocholsaurem Natrium, doch werden bei der Prüfung der Lösung im hängenden Tropfen auch nach 3 Std. noch Streptokokken, aber keine Diplokokkenformen mehr gefunden. — Auf Kochblutagar sind auffallenderweise zwei verschiedene Kolonieformen gewachsen: 1) flächenhafte, grünliche Kolonien in schmalen, gelbgrünen Höfen; nach ihrem Aussehen dürften sie den auf Blutagar beschriebenen entsprechen; 2) tröpfchenartige, graue Kolonien ohne Veränderung des Nährbodens; diese grauen Wuchsformen ähneln denen hämolytischer Streptokokken auf Kochblutagar. Das Auftreten zweier Kolonieformen wird in entsprechender Weise auch auf Blutwasseragar beobachtet und dort besprochen werden.

Nach den gewonnenen Ergebnissen halte ich den Kochblutagar für ein geeignetes Hilfsmittel, grünende Streptokokken und Pneumokokken einerseits von hämolytischen Streptokokken andererseits zu unterscheiden. Die Resultate scheinen auch dann diagnostisch verwertbar, wenn das hämolytische Vermögen auf Blutagar wechselt: denn der auf Blutagar hämolytische Pneumokokkenstamm wächst auf der Kochblutplatte typisch mit Grünfärbung; zwei hämolytische Streptokokkenstämme, von denen der eine (Nr. 7) auf Pferdeblutagar nur eine ockerfarbene Aufhellung zustande bringt, der andere mit einer Andeutung von Grünfärbung wächst, zeigen auf Kochblutagar typische graue Kolonien ohne jede Verfärbung des Nährbodens.

Blutwasseragar.

Artbezeichnung	Zahl der untersuchten Stämme	typisch	atypisch
Streptococcus longus haem.	18	10	8 (davon 4 mit fahlgelber Aufhellung, 4 mit Viridans-Merkmalen)
Streptococcus viridans	27	27	—
Pneumococcus	12	12	—
Streptococcus mucosus	2	2	—
fragl. Diplostreptococcus	1	—	1 (2 Kolonieformen)

Zu abweichenden Ergebnissen komme ich bei der Prüfung meiner Stämme auf Blutwasseragar: Auf diesem klaren, rubinroten Agar wachsen die untersuchten hämolytischen Streptokokken im allgemeinen als zarte, saftige Kolonien ohne Verfärbung des Agars. Nach 24- bis 48-stünd. Wachstume können sie mit der Oese ohne Verletzung des Nährbodens abgestrichen werden, der darunter glatt und spiegelnd bleibt. — Bei 4 meiner Stämme (Nr. 5, 6, 7, 14), die in solchen farblosen, abstreichbaren Kolonien wachsen, ist jedoch an Stellen dichter Aussaat eine fahlgelbe Aufhellung des Nährbodens bemerkbar, wie ich sie bei grünenden Streptokokken beschreiben werde und Bieling sie

Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

nach reichlicher Beimpfung mit Pneumokokken gesehen hat. Weitere 4 Stämme, die sich ebenfalls auf Blutagar als hämolytisch erweisen, zeigen auffallenderweise auf Blutwasseragar Viridans-Merkmale: so wächst Stamm Nr. 4 in schokoladenfarbenen Kolonien mit fahlgelber Tönung des Nährbodens; Nr. 8 bringt sepiabraune Kolonien in gelbgrünlichen Höfen hervor; Stamm Nr. 15 (auf Hammelblutagar nicht vollkommen hämolytisch) zeigt braune Kolonien mit gelblicher Aufhellung des Nährbodens, schließlich Nr. 18 grünlich-braune Kolonien mit Aufhellung des Agars an allen beimpften Stellen; überdies zeigen alle 4 Stämme das für Viridans-Streptokokken charakteristische „anhaftende" Wachstum. Sie müßten also nach ihren Merkmalen auf Blutwasseragar im Widerspruch zu ihrem sonstigen Verhalten als Viridans-Formen bezeichnet werden.

Die Viridanstreptokokken wachsen auf Blutwasseragar in zumeist saftigen Kolonien etwa von der Größe derer auf Blutagar; die Farbe der Kolonien zeigt Abstufungen von lichtem Braungelb oder Grüngelb über Schokoladenbraun nach tiefem Sepiabraun. Im Bereiche der Kolonien, besonders an Stellen dichter Aussaat, ist der Nährboden fahlgrüngelb aufgehellt und gelegentlich ein wenig getrübt. Bei dem Versuche, die Kolonien mit der Oese von Agar abzustreichen, bleiben Kulturreste auf dem Kolonieuntergrunde haften. Aeltere, meist nur über 24 Std. alte Kolonien sind — besonders bei trockenerem Wachstume — etwas in den Agar eingesunken, können dann ohne Verletzungen des Nährbodens nicht abgestrichen werden; werden sie vorsichtig als Ganzes vom Agar abgehoben, so bleibt an ihrer Stelle ein rundliches Grübchen zurück. Die fahlgelbe Aufhellung des Agars tritt immer und auch ziemlich frühzeitig ein (Bieling beschreibt sie nur als nebensächliches Merkmal bei Pneumokokkenkulturen). Die angegebenen Charaktere der Viridans-Streptokokken zeigen auch jene 5 Stämme (Nr. 30, 32, 33, 34, 39), die Pferdeblutagar unverändert lassen, und der Stamm Nr. 45, der Kochblutagar nicht grün zu färben vermag.

Aehnlich den Viridans-Stämmen verhalten sich auf Blutwasseragar die Pneumokokken: sie bringen saftige Kolonien bis zu $^1/_2$ mm Durchmesser hervor, die hellgrünlich bis bräunlich gefärbt sind. (Auffallend große Kolonien bis zu 5 mm Durchmesser, Bildung einer glatten, zusammenhängenden, schleimigen Haut, wie sie von Bieling beobachtet wurden, habe ich nicht feststellen können. Kolonien von „schwarzbrauner" Farbe finde ich nur bei dem Stamme Nr. 54, der sich auch in seinem übrigen Verhalten auf Blutwasseragar von einem Streptococcus viridans nicht unterscheiden läßt.) Die fahlgelbe Aufhellung des Nährbodens, wie sie bei den Viridans-Formen beschrieben ist, fehlt unter den Pneumokokkenstämmen nur bei dem in zarten, eben sichtbaren Kolonien — auf Pferdeblutagar allerdings in auffallend großen Kolonien — gewachsenen Stamme Nr. 51 und ist nur angedeutet vorhanden bei 2 anderen Stämmen, Nr. 49 und 57, deren Kulturen im übrigen auf Blutwasseragar auch recht dürftig entwickelt sind. Demgegenüber zeigt der Stamm Nr. 56 saftige, in den Agar eingesunkene, grünliche Kolonien, deren jede einen fahlgelben Hof besitzt.

Die beiden Streptococcus mucosus-Stämme sind auch auf Blutwasseragar durch Schleimbildung gekennzeichnet. Sie bilden hier saftige, vielfach zu Beeten zusammenfließende Kolonien auf fahlgelb aufgehelltem Grunde. Werden die Kolonien vom Agar abgestrichen, so bleiben gekörnt aussehende Kulturreste zurück.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Stamm kapselbildender Diplostreptokokken Nr. 58, der auf Kochblutagar zwei verschiedene Kolonieformen abspaltet, zeigt auch in seinen Kulturen auf Blutwasseragar entsprechende Verhältnisse: 1) saftige, grünlich-bräunliche, nicht anhaftende Kolonien; wo mehrere davon zusammenliegen, ist der Agar fahlgelb aufgehellt; 2) tautropfenähnliche Kolonien ohne Verfärbung des Nährbodens; sie sehen denen hämolytischer Streptokokken auf Blutwasseragar ähnlich und können mit solchen verwechselt werden. — Danach handelt es sich entweder um Mischkulturen zweier Stämme (deren Kolonien allerdings auf Blutagar einheitlich erscheinen) oder es handelt sich um nur einen Stamm, bei dessen Individuen man eine besondere Variabilität vermuten muß, wenn man nicht Mutation annehmen will. Haben wir es mit nur einem Stamme zu tun, so kann er vielleicht zwischen Viridans-Streptokokken und Pneumokokken eingereiht und als eine Uebergangsform bezeichnet werden, die den Pneumokokken nahesteht.

Auf Grund der beschriebenen, von Bielings Angaben abweichenden Untersuchungsergebnisse kann ich den Blutwasseragar als sicheres Unterscheidungsmittel „für alle drei Kokkenarten" nicht gelten lassen. Bei seiner Verwendung gelingt es mir nicht, Viridans-Streptokokken von Pneumokokken zu trennen: sogar das saftige Wachstum, das ich bei allen Pneumokokkenstämmen beständig finde, wird auch von den meisten Viridans-Formen eingehalten; im übrigen kann ich verwertbare Unterschiede nicht bemerken. Auch bei der Trennung von Viridans- und hämolytischen Streptokokken sind Verwechslungen möglich; denn 4 Stämme, die nach ihrem Verhalten auf den übrigen Nährböden offenbar als hämolytische Streptokokken angesprochen werden müssen, führen auf Blutwasseragar die Merkmale des Streptococcus viridans.

Blutwasseroptochinagar.

Artbezeichnung	Zahl der untersuchten Stämme	typisch	atypisch
Streptococcus longus haem.	28	10	8 (davon 4 mit fahlgelber Aufhellung, 4 mit Viridans-Merkmalen)
Streptococcus viridans	27	27	—
Pneumococcus	12	9 (davon 3 nur gehemmt)	3
Streptococcus mucosus	2	2	—
fragl. Diplostreptococcus	1	1	—

Das regelwidrige Verhalten einiger hämolytischer Streptokokken auf Blutwasseragar tritt in ganz entsprechender Weise auf dem Blutwasseroptochinagar hervor, auf dem die übrigen hämolytischen Stämme mit den gleichen Merkmalen wie auf Blutwasseragar, d. h. abstreichbar und ohne Verfärbung des Nährbodens wachsen.

Viridansstreptokokken und Pneumokokken hingegen zeigen — infolge der spezifischen Empfindlichkeit der Pneumokokken gegen den Optochinzusatz — auf diesem Nährboden Wachstumsunterschiede, durch die sich beide Arten trennen lassen.

Die untersuchten Viridansstreptokokken wachsen auf Blutwasseroptochinagar unbeeinträchtigt wie auf Blutwasseragar; das An-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

haften bzw. Einsinken ihrer Kolonien in den Agar und die fahlgelbe Aufhellung des Nährbodens sind auch hier charakteristisch. So entstehen bei dichter Beimpfung, wie Bieling es ausdrückt, „mehr oder minder dicke, meist braun gefärbte, trockene Beläge, welche auf dem Nährboden fest anhaften und sich nicht abstreichen lassen".

Von den untersuchten Pneumokokken zeigen auf Blutwasseroptochinagar 6 Stämme (Nr. 46, 49, 52, 53, 55, 56) gar kein Wachstum. 3 andere wachsen deutlich gehemmt (Nr. 48, 51, 57). Die übrigen 3 Stämme (Nr. 47, 50, 54) lassen eine Beeinträchtigung durch den Optochinzusatz nicht erkennen. — Die 6 erstgenannten Pneumokokkenstämme besitzen auch das gemeinsame Merkmal, daß ihre Kulturen durch Galle und taurocholsaures Natrium aufgelöst werden. Von den folgenden dreien, deren Wachstum auf Optochinagar deutlich gehemmt wird, verläuft bei Nr. 48 und 51 die Gallenprobe ebenfalls positiv, bei Nr. 57 ist die Lösung nicht vollkommen. Von den letzten 3 Stämmen, die ungehemmt wachsen, wird Nr. 47 durch taurocholsaures Natrium nicht gelöst (während eine subkutan infizierte Maus innerhalb 24 Std. verendet und in den Ausstrichen von Herzblut und Milz typische Diplokokken mit Kapseln festgestellt werden). Desgleichen wird der auf Pferdeblut hämolytische Stamm Nr. 50 durch taurocholsaures Natrium nicht gelöst. Bei dem typischen Stamme Nr. 54 verläuft die Gallenprobe jedoch wieder positiv.

Die beiden Streptococcus mucosus-Stämme erweisen ihre Verwandtschaft mit den Pneumokokken dadurch, daß sie, wie diese, auf Blutwasseroptochinagar kein Wachstum erkennen lassen; auch werden sie durch Galle aufgelöst.

Stämme mit abweichenden Eigenschaften.

(20 von 60.)

Artbezeichnung der Stämme	Strept. longus haemolyticus	Strept. viridans	Pneumococcus	Str. mucosus	? Diplostreptococcus
Hammelblutagar	angedeutet grün, Nr. 10	.	.	.	.
Pferdeblutagar	.	ockerfarben, Nr. 7; ohne Veränder.: Nr. 30, 32, 33, 34, 39	.	.	.
Kochblutagar	.	ohne Veränder.: Nr. 45	.	.	2 Kolonieformen: Nr. 58
Blutwasseragar	bei dichter Aussaat fahlgelb, Nr. 5, 6, 7, 14; wie Viridans: Nr. 4, 8, 15, 18.	.	.	.	2 Kolonieformen: Nr. 58
Blutwasseroptochinagar	bei dichter Aussaat fahlgelb, Nr. 5, 6, 7, 14; wie Viridans: Nr. 4, 8, 15, 18	.	ungehemmtes Wachstum: Nr. 47, 50, 54	.	.
Galle u. taurocholsaur. Natrium	.	.	nicht gelöst: Nr. 47, 50; nicht vollk. gelöst; Nr. 57	.	Diplokokken gelöst, Ketten nicht gelöst: Nr. 58

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Stamm kapseltragender Diplostreptokokken, der auf Kochblutagar und Blutwasseragar zwei verschiedene Kolonieformen liefert, vermag ebenfalls auf Blutwasseroptochinagar nicht zu wachsen. Beim Galleversuche werden (s. o.) vom Kulturrasen die Diploformen gelöst, während Ketten erhalten bleiben.

Nach diesen Untersuchungsergebnissen gestattet der Blutwasseroptochinagar ebensowenig eine sichere Trennung zwischen Viridans-Formen und hämolytischen Streptokokken, wie ich sie dem Blutwasseragar zuerkennen kann. Denn ich habe 4 hämolytische Stämme beobachten können, die (ihrem Verhalten auf Blutwasseragar entsprechend) auf Blutwasseroptochinagar mit Merkmalen der Viridans-Streptokokken hervorgetreten sind. Die Unterscheidung von Pneumokokken und Viridans-Streptokokken gelingt mit geringen Ausnahmen, sie bedarf jedoch einer gleichzeitigen Kontrolle durch Blutwasseragar; nur so läßt sich einerseits in Fällen, wo Wachstum stattfindet, ein Urteil über den Grad der Wachstumshemmung gewinnen; andererseits sei daran erinnert, daß Pneumokokken gelegentlich auch auf Blutwasseragar nicht anzugehen vermögen.

Zusammenfassung.

Bielings Kochblutagar ist ein geeignetes Hilfsmittel, grünende Streptokokken und Pneumokokken einerseits von hämolytischen Streptokokken andererseits zu trennen. Bei fehlender Grünfärbung des Kochblutagars kann nicht entschieden werden, ob hämolytische oder nichthämolytische Kulturen vorliegen.

Das Verhalten hämolytischer Stämme ist auf Bielings Blutwasseragar starken Schwankungen ausgesetzt, so daß Verwechslungen zwischen Viridans-Streptokokken und hämolytischen Streptokokken vorkommen können. Auch lassen sich Viridans-Streptokokken nicht von Pneumokokken unterscheiden.

Bielings Blutwasseroptochinagar trennt Viridans-Streptokokken und Pneumokokken, sofern letztere auf Blutwasseragar zu wachsen vermögen. Das Verhalten hämolytischer Streptokokken wechselt ebenso wie auf Blutwasseragar.

Auch bei Verwendung dieser neuen Blutnährböden lassen sich die durch die Variabilität der Stämme bedingten Fehlergebnisse nicht vermeiden.

Literaturverzeichnis.

Schottmüller, H., Die Artunterscheidung der für den Menschen pathogenen Streptokokken durch Blutagar. (München. med. Wochenschr. 1903.) — Ders., Endocarditis lenta. Zugleich ein Beitrag zur Artunterscheidung der pathogenen Streptokokken. (Ebenda. 1910.) — Kuczynsky, M. H., u. Wolff, E. K., Untersuchungen über die experimentelle Streptokokkeninfektion der Maus. Ein Beitrag zum Problem der Viridans-Sepsis. (Berlin. klin. Wochenschr. 1920.) — Ders., Weitere Untersuchungen über den Streptococcus viridans. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 92.) — Ders., Streptokokkenstudien. IV. Mitteilung: Zur Analyse chronisch septischer Zustände (Sepsis lenta). (Berlin. klin. Wochenschr. 1921.) — Schnitzer, R., u. Munter, F., Ueber Zustandsveränderungen des Streptokokken im Tierkörper. I. und II. Mitt. (Zeitschr. f. Hyg. 1921.) — Hintze, K., u. Kühne, R., Zur Frage der Umwandlung hämolytischer Streptokokken in die grünwachsende Form. (Centralbl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88.) — Bieling, R., Methoden zur Differenzierung der Streptokokken und Pneumokokken. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 86.) — Nachmann, G., Die Differenzierung der Pneumokokken und Streptokokken durch Optochin. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77.) — Rochs, K., Zur Differentialdiagnose der Streptokokken und Pneumokokken. (Virchows Arch. Bd. 220. 1915.) — Koch, K., Zur Kenntnis der Pneumokokken und Streptokokken. (Ebenda. Bd. 227. 1919.) — Neufeld, F., u. Haendel, L., Wirkungen der gallensauren Salze. (Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. 28. 1908.)

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der Milzbrand- und milzbrandähnlichen Bazillen [1]).

Von Dr. **Gerhard Wagner,**
Direktor des Hygienischen Instituts der Freien Stadt Danzig.

II. Milzbrandähnliche Bazillen als Krankheitserreger.

„Milzbrandähnliche" Bazillen haben im bakteriologischen Schrifttum seit langem eine Rolle gespielt; von Hueppe und Wood (Berl. klin. Wochenschr. 1889. Nr. 16) wurden sie schon 1889 in Wasser und Erde beobachtet und beschrieben: „sie gleichen den Milzbrandbazillen nach Form- und Wachstumsmerkmalen zum Verwechseln". Hueppe und Wood nannten diesen Keim B. anthracoides (L. Heim gibt die gleiche Bezeichnung einem von ihm in Faulflüssigkeit gefundenen Stäbchen) und hielten eine Artverwandtschaft mit B. anthracis für vorliegend — nicht nur wegen der erwähnten morphologischen und kulturellen Uebereinstimmungen, sondern auch auf Grund ihrer angeblichen immunisatorischen Eigenschaften gegen nachträgliche Milzbrandinfektionen. Später (1894) isolierte Burri aus südamerikanischem Futtermehl dem Milzbrandstäbchen sehr ähnliche Sporenbildner, die er B. pseudanthracis benannte. Stellt man aus den obigen Mitteilungen die hauptsächlichsten Eigenschaften zusammen, so ergeben sich folgende Merkmale:

Aërob wachsende, grampositive Stäbchen von der ungefähren Größe 1 : 3—6 μ, die unbeweglich (Hueppe-Wood) oder nur langsam beweglich (Burri) sind; sie wachsen in langen Fäden; ihre Kolonien sind lockig wie die des Milzbrandes. Die Gelatine verflüssigen sie schneller als der B. anthracis; die Stichkultur ist daher schlauchförmig, ohne Ausläufer. Sie bilden Sporen — über die Art ihrer Auskeimung und ihre Resistenz fehlen nähere Angaben. Tierpathogenität fehlt oder ist doch nur sehr gering.

Die „Aehnlichkeit" stützt sich also im wesentlichen auf die Morphologie des Einzelbakteriums und den Aufbau der Kolonien. In den fermentativen Eigenschaften (Gelatineverflüssigung) scheinen zum mindestens stark quantitative Unterschiede vorhanden zu sein; hinsichtlich der Tierpathogenität weichen sie vom Typus des B. anthracis gänzlich ab. Es mag hier dahingestellt bleiben, ob die Aehnlichkeiten die Unterschiede an biologischer Bedeutung so weit überwogen, daß es gerechtfertigt und zweckmäßig war, diese Bakterien, deren Herkunft die An-

1) Vgl. diese Zeitschr. Bd. 84. 1920. S. 386. Die hier mitgeteilten Beobachtungen und Versuche wurden in den Jahren 1914 und 1915 am Hygienischen Institut der Universität Kiel angestellt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Autor	Ort der Mitteilung	Herkunft der Kultur	Morphologische und kulturelle Eigenschaften	Pathogenität für Versuchstiere	Bemerkungen
1) L. Klein	Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 6	Blut einer vermutlich an Milzbrand verstorbenen Kuh.	Stäbchen milzbrandähnlich, auch in Fäden wachsend. Sporen an einem Pol auskeimend. In flüssigen Nährböden Bildung einer glatten Decke.	Nicht pathogen für Meerschweinchen.	Bacillus sessilis genannt.
2) C. P. Fitsch[1])	Report of the New YorkState veterinary College for the year 1909/10. p. 200; ref. Ctbl. f. Bakt. Abt I. R. Bd. 51. S. 387	Organe eines verendeten Pferdes.	Milzbrandähnlich, aber beweglich.	Nicht pathogen für kleine Versuchstiere.	—
3) B. J. Wilamowski	Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. S. 39	Intra vitam aus Pleuraexsudat einer Schustersfrau, post mortem aus Pleuraexsudat, Milz und Rückenmark. Akute Infektion, heftige Allgemeinerscheinungen, subfebrile Temperatur, Milzvergrößerung, Pleuritis, Diarrhöe.	Grampositive, bewegliche, dem B. anthracis ähnliche Stäbchen. Kolonien auf Agar von Milzbrand in keiner Weise zu unterscheiden. Trübt die Bouillon.	Maus mit 0,5 ccm Bouillonkultur intraperitoneal geimpft, tot nach 12 Std. Aus den Organen wieder gezüchtet. Meerschweinchen intraperitoneal geimpft; tot nach 2 Woch. Aus den Organen wieder gezüchtet.	Die Pseudoanthraxinfektion kann durch Einatmung von Sporen oder Stäbchen erfolgen. Die Fälle v. Pseudoanthrax verhalten sich klinisch zu den Fällen von echter Anthraxerkrankung wie die Fälle von Paratyphus zum Typhus.
4) A. Seitz	Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. S. 114.	Aus schleimigem Stuhlgang bei schwerer Enteritis in großen Mengen.	Morphologisch den echten Anthraxbazillen zum Verwechseln ähnlich, aber schwach beweglich. Die Verbände auf der Agarplatte gleichen zunächst einer Milzbrandkolonie, Oberfläche später noch gekörnt.	Mäuse gehen nach Verfütterung oder subkutanen Injektion geringer Mengen lebender oder abgetöteter Bakterien ein. Auch Kulturfiltrat giftig.	Vom Verf. als pathogener B. subtilis bezeichnet.

1) Wiedergegeben nach dem Referat, da ich das Original nicht erhalten konnte. Die Arbeit enthält eine Tabelle der bis dahin beschriebenen milzbrandähnlichen Bazillen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

5) Neufeld	Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. S. 279. Beiheft	Venenpunktionsblut eines klinisch Milzbrandkranken, tödlicher Ausgang, keine Sektion.	Morphologisch und in bezug auf Schlingenbildung der Kolonien dem echten Milzbrand sehr ähnlich. Nur in ganz jungen, 3—5-stünd. Kulturen schwache, aber zweifellose Eigenbewegung.	Nahezu avirulent für Mäuse.	—
6) Lange (ausführlich bei Senge, Centralbl. f. Bakt Abt. I. Orig. Bd. 70. S. 353.	Ebenda.	Intra vitam aus Lumbalflüssigkeit einer Patientin der Frauenklinik, die nach Lumbalanästhesie an eitriger Meningitis starb. Auch post mortem aus Hirn u. Rückenmark gezüchtet.	Geringe Beweglichkeit in jungen Bouillonkulturen. Ascoli schwach positiv, Sporen enorm resistent (15—18 Std. gegen siedendes Wasser).	In großen Dosen pathogen für Mäuse.	Wurde zunächst für Milzbrand gehalten.
7) Poppe	Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. S. 277. Beiheft	Schweinefleisch — der die Notschlachtung ausführende Schlachter starb an klinisch sicherem Milzbrand.	Morphologisch große Aehnlichkeit mit Bac. anthracis, jedoch Zerfall der Fäden in einzelnen Stäbchen. In frischen Kulturen schwach beweglich, Sporen größer als beim Milzbrandbazillus. Stärkere Verflüssigung der Gelatine.	Ursprünglich für Mäuse und Meerschweinchen bei subkutaner Impfung virulent, tötete später nur noch Mäuse bei intraperitonealer Verimpfung großer Mengen.	—
8) Schürmann	Hyg. Rundsch. Bd. 27. 1917. S. 118, und Ztschr. f. Med.-Beamte. 1916. S. 385	Tödlich verlaufende eitrige Meningitis bei einem Kind — aus dem eitrigen Lumbalpunktat intra vitam gezüchtet. Es wird Infektion durch Spielsachen angenommen, da auch bei ihnen milzbrandähnliche Bazillen festgestellt wurden.	Schwache Eigenbewegung, Bouillon getrübt, später Häutchen, Milch gerinnt.	Mäuse, 48 Std. nach subkutaner Impfung, tot, mit entsprechend. Blutbefund. Für Meerschw. nicht pathogen.	2 Kolonieformen wurden mehrfach beobachtet. Solche mit haarlockenähnlicher Struktur wie beim echten Milzbrand, solche mit unregelmäßiger Anordnung der Stäbchenreihen (wie Pseudomilzbrand). Daraus ist zu schließen, daß der Pseudomilzbrandbazillus ein umgeformter Milzbrandbazillus ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nahme zuläßt, daß es sich um ubiquitäre Saprophyten handelt, zu einem obligat pathogenen Bakterium, wenn auch zunächst nur dem Namen nach, in Beziehung zu setzen. Jedenfalls haben die erwähnten Aehnlichkeiten zur Folge gehabt, daß in solchen milzbrandähnlichen Bakterien nicht selten Krankheitserreger vermutet worden sind, weniger, soweit mir bekannt, bei Tieren (Canestrini beschrieb einen milzbrandähnlichen B. apicum und einen solchen der Aalseuche; auch L. Klein züchtete aus dem Blute einer vermutlich an Anthrax gestorbenen Kuh den B. sessilis), mehrfach bei Menschen. Ich habe aus dem Schrifttum folgende Fälle, über die genauere Nachrichten vorliegen, zusammengestellt:

Als Pseudomilzbrandfälle müssen wohl auch die von Bitter erwähnten Züchtungen betrachtet werden; aus dem Inhalt zweier milzbrandverdächtiger Pusteln und aus einem auf Meningokokken zu untersuchenden Lumbalpunktat wurden Kolonien gezüchtet: „ganz danach angetan, auch den Geübten zu einer falschen Milzbranddiagnose zu veranlassen", nur die schwache Beweglichkeit und die fehlende Tierpathogenität, sowie die Häutchenbildung in Bouillon neben dem aus zusammengeknäuelten Fäden bestehenden Bodensatz, führten zur Ablehnung der Milzbranddiagnose. Bitter identifiziert diese Kulturen mit dem sogenannten „hirnwindungsartigen" Erdbazillus R. Kochs oder, wie Bitter ihn nennt, Bacillus gyroides.

Es ist ferner nicht ausgeschlossen, daß auch unter den als Milzbrand bakteriologisch diagnostizierten Fällen sich Fehldiagnosen befinden, mit denen angesichts der für den in der Milzbranddiagnose nicht besonders Erfahrenen nicht geringen Schwierigkeiten meines Erachtens gerechnet werden muß. So finde ich im „Sanitätsbericht über die Kgl. preußische Armee usw." 1913, S. 23 folgende Mitteilung:

„Ein Sergeant in Straßburg i./E. wurde am 5. Juli 1912 wegen eines schon 4 Wochen bestehenden, stark juckenden und schuppenden Hautausschlags, der den ganzen Körper befiel, ins Lazarett aufgenommen. Wenige Tage darauf bildeten sich am Halse 2 Geschwüre von der Größe eines Zehnpfennigstückes bzw. eines halben Pfennigstückes, die nach dem klinischen Aussehen und dem mikroskopischen Befunde (Milzbrandbakterien, auch kulturell nachgewiesen, keine Spirochäten) als Milzbrandgeschwüre bezeichnet wurden. Allerdings zeigten 2 mit dem Geschwürssaft bzw. den Bakterienkulturen geimpfte Mäuse, die 9 bzw. 12 Tage danach starben, keine krankhaften Veränderungen, auch Milzbrandbakterien konnten in ihnen nicht nachgewiesen werden. . . . Eine Ansteckungsquelle ließ sich nicht feststellen. Es wurde daher Uebertragung durch Insektentisch angenommen, und zwar von Bakterien mit abgeschwächter Giftigkeit."

So mißlich es ist, die hier gestellte Milzbranddiagnose anzweifeln zu müssen, so wird man doch namentlich unter Berücksichtigung des Ergebnisses der Tierversuche zugeben müssen, daß die Möglichkeit einer Täuschung durch milzbrandähnliche Bazillen nicht ganz von der Hand zu weisen ist.

Mein Interesse an den mitgeteilten Befunden wurde dadurch wachgerufen, daß ich während meiner Assistentenzeit am Untersuchungsamt des Hygienischen Instituts zu Kiel ebenfalls mehrfach milzbrandähnliche Kolonien und Stäbchen aus eingesandtem Untersuchungsmaterial züchtete und mir die Frage vorzulegen hatte, ob es sich hier um Befunde von ätiologischer Bedeutung handle:

a) Blutagarplatten, in der chirurgischen Klinik von einem auf Sepsis verdächtigen Fall gegossen und dem Untersuchungsamt zur Diagnose überwiesen, zeigten mehrere oberflächliche Kolonien mit milzbrandähnlichen Randauffaserungen. Bouillonkulturen: diffus getrübt. Mäuseimpfung negativ. Urteil: Da im Innern der Blutagargußplatten kein Wachstum, „Verunreinigung durch Luftkeime" anzunehmen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

b) Kniepunktat, aus einem Kieler Krankenhaus zur Untersuchung auf Keime eingesandt, zeigt schon im direkten Ausstrich zahlreiche grampositive Stäbchen von der Größe der Milzbrandbazillen. Aussaat auf Blutagar: Reinkultur von milzbrandähnlichen Kolonien mit hämolytischen Höfen. Milzbrand wird durch negativen Ausfall des Tierversuchs und Verhalten in Bouillon (allgemeine Trübung, anfängliche Beweglichkeit) ausgeschlossen. Mit Rücksicht auf den Befund im direkten Ausstrich wird mitgeteilt, daß im Kniepunktat milzbrandähnliche, aber keine Milzbrandstäbchen gefunden wurden; ätiologische Bedeutung zweifelhaft.

c) Pustelinhalt von einem milzbrandverdächtigen Fall — zwischen 2 Objektträgern angetrocknet — wird in Bouillon angereichert. Die Aussaat ergibt zahlreiche milzbrandähnliche Koloien, die bei näherer Untersuchung sich durch die gleichen Merkmale, wie die vorigen Fälle, sich als „Pseudomilzbrand" erweisen. Trotz des Milzbrandverdachtes wird in Anbetracht der starken Verunreinigungsmöglichkeit des zwischen Objektträgern eingesandten Materials eine ätiologische Bedeutung nicht für wahrscheinlich gehalten.

d) Pustelinhalt des Lederarbeiters Joh. B. im Di-Tupferröhrchen vom Krankenhaus Neumünster eingeschickt. Direkter Ausstrich: frei von Bakterien. Kultur: zahlreiche milzbrandähnliche Kolonien, die aber durch Hämolyse auf Blutagar, schwache Beweglichkeit, diffuse Trübung der Bouillon, fehlende Kapselbildung und geringe Tierpathogenität im Tierversuch als Pseudomilzbrand diagnostiziert werden. Klinische Diagnose: Milzbrand. Nach Mitteilung des Krankenhauses, daß in Milzbrandfällen große Erfahrung hatte, war anfangs die Pustel sehr typisch, zeigte Bläschenbildung sowie Rötung und Schwellung der Umgebung. Spätere Eintrocknung und Schwarzfärbung. Auch im Krankenhause wurden mehrfach Originalausstriche mikroskopiert, aber niemals Bazillen gefunden. Mit Rücksicht auf den fehlenden Befund in den direkten Ausstrichen ist die Möglickeit einer späteren Verunreinigung der Kulturplatten durch milzbrandähnliche Bazillen nicht auszuschließen.

e) Lumbalpunktat eines 15-jähr. Knaben mit folgender Krankheitsgeschichte, die mir seinerzeit von der Leitung des Kieler Anschar-Krankenhauses freundlichst mitgeteilt wurde:

W. H., 15 Jahre alt. Nach einem Fall auf einen Stein mit leichter Verletzung des linken Knies traten 2 Tage später Krämpfe und Benommenheit ein, die zur Aufnahme ins Krankenhaus führten. Hier war der Status und der Verlauf der Krankheit folgender:

3. März 1914. Status: Gut genährter, kräftig gebauter Knabe.

Pat. ist vollkommen benommen und sehr unruhig. Gesicht dunkelrot etwas bläulich. Unterkiefer wird fest auf den Oberkiefer gepreßt, Masseteren gespannt, aber kein deutlicher Trismus. Nackensteifigkeit angedeutet; Kopf wird etwas nach rückwärts gehalten. Arm- und Beinmuskulatur deutlich gespannt; Unterarm und Unterschenkel in Beugestellung; häufig tonische, langsame Zuckungen der Unterarme. Pupillen reagieren beiderseits gleichmäßig; Bulbus nach oben gerichtet. Patellarreflexe und Achillessehnenreflexe gesteigert; Fußklonus. Bauchdeckenreflex vorhanden. Babinski +. Kleine Hautabschürfungen in der rechten Kniegelenksgegend, nicht entzündet, in Abheilung.

Harn: Reaktion sauer; Eiweiß +; Zucker —; Diazo —; mikroskopisch: Zylinder und Leukozyten. Das Allgemeinbefinden ist schlecht, das Krankheitsbild äußerst schwer. Lumbalpunktion: Druck 260 mm. Punktat abgelassen, bis der Druck = 120 ist. Punktat trübe, enthält reichlich Leukozyten und anscheinend Stäbchen (Loefflers Methylenblau). Punktat wird ins Hygienische Institut gesandt. Da die Diagnose mit Wahrscheinlichkeit auf Tetanus gestellt wird, 20 I.E, sowie 2 ccm 15-proz. Magnesiumsulfatlösung in den Lumbalsack. Danach heftige Unruhe von $^1/_2$-stünd. Dauer.

4. März. Zustand noch schwerer. Pat. läßt unter sich gehen. Urinretention. Katheterismus. Nährklystier. Keine Krämpfe, kein Trismus, ausgeprägte Nackensteifigkeit.

5. März. Temperatur gesunken. Pat. noch benommen. Aussehen besser. Keine Krämpfe, aber große Unruhe.

6. März. Temperatur weiter gesunken. Pat. ist ruhiger, schlägt auf Anruf die Augen auf. Lumbalpunktion: Druck 220, wird abgelassen auf 130 mm. Punktat nicht mehr so trübe; mikroskopisch Leukozyten, nicht mehr so reichlich; vereinzelt Lymphozyten. Probe ins Hygienische Institut. Urotropin $3 \times 1{,}0$ g.

7. März. Erhebliche Besserung. Bewußtsein kehrt zurück, nur noch Urinretention. Katheterismus.

8. März. Pat. spricht. Verlangt zu essen. Urin spontan gelassen.

12. März. Pat. vollkommen klar, keine Beschwerden. Fernerhin gute Besserung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Untersuchung der beiden Punktate im Hygienischen Institut ergab in beiden Fällen im direkten Ausstrich große gram positive Stäbchen und in der Kultur milzbrandähnliche Kolonien, die sich aber bei weiterer Prüfung ebenso verhielten wie in den vorigen Fällen, so daß also Milzbrand ganz ausgeschlossen war. Da die Meningitis in 3 Tagen, also auffällig schnell, abklang, so schien in diesem Falle die ätiologische Rolle der Pseudomilzbrandbazillen per exclusionem ernstlich in Frage zu kommen, da Entzündungen der Hirnhäute durch Meningokokken oder Pneumokokken — abgesehen davon, daß diese bei der Untersuchung nicht gefunden wurden — kaum in 3—4 Tagen abheilen und auch gegen Tetanus manches spricht. Besonders wichtig schien, daß beide Male schon im direkten Ausstrich die Stäbchen gesehen worden waren, das erste Mal im Krankenhause selbst bereits, also vor der Ueberführung der Proben ins Hygienische Institut; eine Verunreinigung beim Transport oder bei der bakteriologischen Untersuchung schien demnach ausgeschlossen.

Es verbleiben vielmehr nur 3 Möglichkeiten:

1) Es liegt eine Pseudomilzbrand-Meningitis durch Einwanderung der Keime in die Kniewunde oder irgendeine natürliche Körperöffnung vor. Dann würde der Fall ein Analogon zu dem von Schürmann mitgeteilten Falle (Fall 8 der Uebersichtstabelle) sein; Schürmann glaubt an eine Infektion von der Nase aus — also auf dem Wege, der für die Meningokokken vielfach angenommen wird. Diese Erklärung scheint mir erst dann zulässig, wenn alle anderen Möglichkeiten ausgeschlossen werden können.

2) Es lag irgendeine andere Ursache für die Krankheitserscheinungen vor, aber es sind bei der intralumbalen Behandlung Sporen des milzbrandähnlichen Keimes in den Lumbalsack eingebracht worden, wo sie auskeimten und vielleicht sogar sich vermehrten — also eine sekundäre Infektion. Voraussetzung hierbei wäre, daß die milzbrandähnlichen Bakterien sich in der Lumbalflüssigkeit, d. h. im menschlichen Körper vermehren können, also diese Saprophyten unter bestimmten Umständen eines, wenn auch wohl nur zeitlich beschränkten Parasitismus fähig sind. Diese Möglichkeit scheint mir nicht von vornherein ausgeschlossen, da den milzbrandähnlichen Bazillen eine, wenn auch nicht sehr ausgesprochene, Tierpathogenität zukommt. Auch Fall 6 der Uebersicht, von Lange und von Senge beschrieben, ist offenbar in dieser Weise zustande gekommen.

3) Es hat eine Verunreinigung des Liquors nach den Entnahmen und eine Auskeimung der Sporen sowie Vermehrung der vegetativen Formen stattgefunden, ehe sie zur Untersuchung gelangten. Wie eine Nachfrage ergab, haben beide Proben erst eine Nacht hindurch im Geschäftszimmer des Krankenhauses gestanden — ob ordnungsgemäß verschlossen, bleibe dahingestellt —, ehe sie ins Hygienische Institut gebracht wurden. Daß im Liquor bei Zimmertemperatur ein schnelles Wachstum milzbrandähnlicher Bazillen stattfinden kann, das bewies mir ein Versuch; übrigens hat ja auch das Kammerwasser Robert Koch als Nährboden für die Kultur der Milzbrandbazillen gedient. Also auch diese Möglichkeit ist zu bejahen, die die Milzbrandähnlichen zu bloßen Saprophyten stempeln würde.

Welche Deutung in diesem Falle den Tatsachen gerecht wird, ist nicht zu entscheiden. Immerhin muß die letztgenannte Möglichkeit nicht

Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

nur bei der Bewertung des obigen, sondern auch anderer in die Literatur übergegangener Pseudomilzbrandfälle zur Vorsicht mahnen.

Es sind übrigens in allen diesen Fällen die gefundenen Keime von mir zunächst nicht als Pseudomilzbrandbazillen aufgefaßt und bezeichnet worden, sondern vielmehr, der im Kieler Hygienischen Institut durch seinen damaligen Chef B. Fischer in Anlehnung an Robert Koch eingeführten, oben erwähnten Namengebung folgend, als hirnwindungsartige Erdbazillen, wodurch unsere Auffassung von dem saprophytischen Charakter ja sehr deutlich zum Ausdruck kam. Unter solchen verstand B. Fischer eine im Boden regelmäßig vorkommende Keimart, die er neben Heu- und Wurzelbazillen und dem „Wanderer" regelmäßig in Kursen als Bodenbazillentypen in Erdaussaaten vorzuführen pflegte. Erst durch das im Anschluß an den letztgenannten auffälligen Befund erfolgte Studium der diesbezüglichen Literatur wurde ich auf die Möglichkeit einer gelegentlichen Pathogenität für den Menschen aufmerksam. Es erscheint mir unzweifelhaft, daß es sich bei den Hirnwindungsartigen um eine Spielart des B. mesentericus handelt, bei der das Aussehen der Kolonien zu dem speziellen Vergleich mit den Windungen eines Gehirns Veranlassung gegeben hat, ohne daß damit eine grundsätzliche Abtrennung von dem Sammelbegriff Mesentericus beabsichtigt war. L. Bitter hält allerdings eine solche für zweckmäßig und schlägt den Namen Bac. gyroides vor. Jedenfalls handelt es sich hier um Bodenbazillen mit ubiquitärer Verbreitung, bei denen man mit fließenden Uebergängen in der Kolonieform vom typischen Kartoffelbazillus bis zum Pseudomilzbrand zu rechnen hat. Als ein Beispiel für einen im Aussehen der Kolonien auf Agar außerordentlich milzbrandähnlichen Keim führe ich den zu Desinfektionsversuchen empfohlenen Hofmannschen Erdbazillus an; eine von mir während des Krieges bezogene Kultur desselben war bei der ersten Aussaat auf Agar von einer geradezu verblüffenden Aehnlichkeit mit echtem Milzbrand.

f) Schließlich fand ich milzbrandähnliche Kolonien noch bei der Untersuchung der lymphatischen Rachenorgane eines an lokalem Milzbrand erkrankten Schweines, die mir Herr Dr. Bugge, Vorstand des Kieler Tierseucheninstituts, zu Studienzwecken liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellt hatte, nachdem dort die bakteriologische Diagnose „Milzbrand" gestellt worden war. Der Fall mag gleichzeitig als Beleg dafür dienen, wie leicht man bei der Milzbranddiagnose irren kann, wenn man die differentialdiagnostischen Möglichkeiten gegenüber den Milzbrandähnlichen nicht erschöpft. Ich züchtete auf Agar außer Proteus-Kolonien zahlreiche in anscheinend typischer Weise lockenartig aufgefaserte Kolonien, die, auf Mäuse verimpft, diese rasch töteten und aus den Organen wieder herausgezüchtet werden konnten. Da ich Milzbrandstäbchen erwartet hatte, wurden die gewonnenen Kulturen für geplante spätere vergleichende Untersuchungen über Schweinemilzbrand aufbewahrt. Erst nach einiger Zeit fielen mir bei einer Prüfung zahlreicher Milzbrandstämme auf hämopeptische Eigenschaften auf, daß diese Kultur sich durch solche von den anderen Milzbrandstämmen unterschied; die weitere Prüfung ergab dann fehlende Kapselbildung, allgemeine Trübung der Bouillon, schnelle Verflüssigung der Gelatine, also die Sicherheit, daß meine anfängliche Diagnose „Milzbrand" irrtümlich gewesen war. Dabei dürfte es keinem Zweifel unterliegen, daß in den Organteilen auch echte Milzbrandbazillen enthalten waren, daß also die Diagnose des Tierseucheninstituts, das sich vor-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nehmlich auf das Kapselbildungsvermögen in der Hauttasche der subkutan geimpften Maus zu stützen pflegte, zu Recht bestand. Leider war eine vergleichende Untersuchung beider Stämme nicht mehr möglich, da infolge des inzwischen erfolgten Kriegsausbruches der im Tierseucheninstitut gezüchtete Stamm nicht mehr erhältlich war. Die Erklärung für meinen Befund sehe ich darin, daß die Organe, als ich sie untersuchte, durch Staubteilchen und damit durch Sporen eines sehr milzbrandähnlichen Bazillus verunreinigt waren, so daß ich zunächst irregeführt wurde. An einen ursächlichen Zusammenhang mit der Milzbranderkrankung vermag ich somit nicht zu glauben. Jedenfalls scheint mir meine Auffassung des auf den ersten Blick ja einigermaßen überraschenden Fundes von Milzbrandähnlichen, dort, wo echter Milzbrand mit Sicherheit vorlag, weniger gewagt, als andere Deutungsversuche. Gerade im Hinblick auf den von Poppe mitgeteilten Fall einer Züchtung von Pseudoanthraxbazillen aus Schweinefleisch, das zu einer Milzbrandinfektion des die Notschlachtung vornehmenden Schlächters führte (Uebersicht I, Nr. 7), glaube ich, auf meine Beobachtung und die naheliegende Möglichkeit, ihr eine anspruchslose Erklärung zu geben, hinweisen zu sollen.

Wenn ich auch in den von mir beobachteten Fällen die Möglichkeit einer pathogenen Bedeutung der Milzbrandähnlichen, zum mindesten aber die Wahrscheinlichkeit einer Infektion auf natürlichem Wege stark bezweifle, so ist doch andererseits nicht zu übersehen, daß andere Autoren bei ihren Fällen offenbar von dieser Bedeutung der Milzbrandähnlichen überzeugt sind.

Es gilt dies namentlich von Wilamowski (Fall 3 der Uebersichtstabelle), der bei einer Schustersfrau eine Infektion auf dem Atmungswege annimmt, und den Beruf des Mannes, der mit Fellen zu tun hatte, nach dem Vorbilde des Lungenmilzbrandes zur Unterstützung seiner Ansicht heranzieht. Schürmann (Fall 8) verfolgt ähnliche Gedankengänge: auch er vermutet Eindringen der Keime durch die Nase oder den Mund und bringt den Umstand, daß auf den mit Fell und Roßhaar ausgestatteten Spielsachen des erkrankten Kindes ebenfalls Milzbrandähnliche gefunden worden, mit der Infektion in Zusammenhang. Auch Lange sagt ausdrücklich, daß der Pseudomilzbrandbazillus in seinem Falle (Fall 5) den Tod verursacht hätte; über die Ansteckungspforte äußert er sich nicht. Dagegen hat Senge, der den gleichen Fall ausführlich beschrieben hat, offenbar keinen Zweifel, daß die Infektion bei der Lumbalanästhesie eingetreten ist. Man wird also hier eine — allerdings nicht auf natürlichem Wege zustande gekommene — Erkrankung durch die Milzbrandähnlichen als bewiesen ansehen müssen, zumal auch der Sektionsbefund ganz eindeutig dafür spricht.

Wie weit es den genannten Autoren gelungen ist, ihre Ansicht, daß die Milzbrandähnlichen Krankheit und Tod verursacht haben, durch Tatsachen zu belegen, kann hier außer Betracht bleiben. Man wird indessen, wenn den Milzbrandähnlichen ein Platz in der Reihe der Krankheitserreger eingeräumt werden soll, den strengen Maßstab der bekannten Henle-Kochschen Forderungen nicht außer Acht lassen dürfen: Die Züchtung in Reinkultur ist bei den Milzbrandähnlichen oft genug gelungen; die Uebertragung der Krankheit auf Tiere oder Menschen ist einigermaßen unsicher; und wie steht es mit der Regelmäßigkeit des Vorkommens? Betrachten wir daraufhin die in der Uebersicht enthaltenen sowie die von mir mitgeteilten Fälle — bei denen von L. Bitter

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erwähnten fehlen leider die näheren Angaben —, so ergibt sich als Hinweis auf eine gewisse Regelmäßigkeit die Tatsache, daß es sich 6mal um Ausgangsmaterial gehandelt hat, das durch Punktion gewonnen wurde: so die von Wilamowski, Neufeld, Lange, Schürmann mitgeteilten Fälle; ferner meine Fälle a) Venenpunktat, b) Kniepunktat, c) Lumbalpunktat; auch die von L. Bitter erwähnte Züchtung aus einem auf Meningokokken zu untersuchenden Lumbalpunktat könnte hierher gerechnet werden. Es scheint mir hierin ein beachtlicher Hinweis auf die Möglichkeit der Einbringung dieser Keime gelegentlich der Punktion zu liegen. Daß die durch Punktion eröffneten Körperhöhlen auch Keimen mit schwach pathogener Wirkung einen günstigen Nährboden bieten, wäre verständlich. Wenn man sich erinnert, daß die Milzbrandähnlichen im Boden und damit im Staube häufig, ja mancherorts wohl regelmäßig, vorhanden sind, daß sie ferner außerordentlich resistente Sporen bilden, die auch den üblichen Sterilisationsmaßnahmen trotzen können, — in dem von Lange und Senge beobachteten Falle vertrugen sie 15—18 Std. hindurch die Temperatur des siedenden Wassers! — so wird man, ohne damit der Punktionstechnik den Vorwurf einer subjektiv mangelhaften Asepsis zu machen, das als durchaus möglich anerkennen müssen. Die krankheitserregende Rolle der Milzbrandähnlichen würde dann die eines von besonders gearteten Umständen abhängigen, selten in Erscheinung tretenden Halbparasiten sein.

In zweiter Linie könnte auffallen, daß mehrfach tierisches Material: Blut einer Kuh (L. Klein), Organe eines verendeten Pferdes (C. P. Fitsch), Schweinefleisch (Poppe) und mein Fall e) als Ausgangsmaterial für die Züchtung dienten. Daraus sollten aber meines Erachtens keine besonderen Schlüsse gezogen werden: ist es schon außerordentlich schwierig, an der menschlichen Leiche eine für die bakteriologische Untersuchung einwandfreie Obduktion durchzuführen, so ist bei der Tötung und Oeffnung von Tieren der Verunreinigung durch Saprophyten noch in ungleich höherem Maße Gelegenheit geboten. Im übrigen ist in diesen Fällen, wie auch bei den Züchtungen aus Pusteln, Furunkeln usw., immer mit einer gewissen geistigen Einstellung des Untersuchers zu rechnen: man wird auf Milzbrandähnliche dann mehr achten, wenn man Milzbrandkeime erwartet. Von einer gewissen Regelmäßigkeit des Vorkommens wird man also höchstens im Hinblick auf die Punktionsfälle sprechen können.

Abschließend glaube ich feststellen zu können: Die bisher mitgeteilten Befunde milzbrandähnlicher Bazillen bei menschlichen oder tierischen Erkrankungen liefern keinen Beweis für auf natürlichem Wege entstandene Infektionen. Hinsichtlich meiner diesbezüglichen Beobachtungen erhebe ich jedenfalls diesen Anspruch nicht. Es ist aber wahrscheinlich, daß milzbrandähnliche Bazillen, die künstlich in empfängliche Körperhöhlen (Pleurahöhle, Subarachnoidealraum) eingeimpft werden, zu pathogener Wirkung befähigt sind.

Literatur [vgl. auch die Uebersicht auf S. 447].

1) Bitter, L., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. S. 235. — 2) Burri, Hyg. Rundsch. 1904. H. 8. — 3) Canestrini, Atti Soc. Ven. Trent. Sc. Natur. 1891. — 4) Heim, L., Lehrb. d. Bakt. 4. Aufl. 1911. S. 297. — 5) Hoffmann, Lehrb. d. Militärhyg. Berlin 1912. Bd. 4. S. 78. — 6) Hueppe-Wood, Berlin. klin. Wochenschrift. 1889. Nr. 16.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

III. Zur Pathogenese des lokalen und chronischen Schweinemilzbrandes.

Durch die Veröffentlichungen von Elsässer und Siebel, sowie später von Glage, Schmitz, Greve, Meyer u. a. war in den letzten Jahren vor dem Kriege die Aufmerksamkeit auf die praktisch wichtige und theoretisch interessante Tatsache gelenkt worden, daß bei Schweinen außer der als allgemeine Sepsis schnell verlaufenden Milzbranderkrankug eine eigentümliche, auf örtliche Herde, z. B. einzelne Drüsen, namentlich des Halses und des Gekröses, oder auch Infarkte in inneren Organen beschränkte, gutartig verlaufende Form des Milzbrandes vorkommt. Man kam bald zu der Ansicht, daß es sich hier um eine besondere Art des Fütterungsmilzbrandes, hervorgerufen durch Verfütterung ausländischer Futtermittel, wie Fischfuttermehl, indisches Knochenmehl und auch russische Gerste handelt. Diese Meinung, die durch Züchtung typischer Milzbrandbazillen (neben vielen „Milzbrandähnlichen") aus diesen Futtermitteln gestützt wurde, ist durch den Krieg zur absoluten Gewißheit geworden, denn mit dem Ausbleiben der Futtermittel hat auch der Schweinemilzbrand aufgehört. Das wurde mir schon anfangs 1915 von mehreren Seiten, die auf diesem Gebiete besonders unterrichtet waren, wie Reg.- und Vet.-Rat Bartels, Leiter des Veterinär-Bakteriologischen Instituts der Regierung zu Schleswig, Dr. Bugge, Vorstand des Tierseucheninstituts der Landwirtschaftskammer in Kiel, und Prof. Glage, Leiter der Bakteriologischen Station der Polizeibehörde Hamburg (Veterinärwesen) bestätigt, als ich mir Material zu Untersuchungen über den Schweinemilzbrand erbat. Die Einfuhr von Futtermitteln hat nach dem Kriege infolge der Valutaschwierigkeiten keinen nennenswerten Umfang mehr erreicht, und meines Wissens ist der Schweinemilzbrand auch weiterhin ausgeblieben. Es ist also durch dieses ungewollte Experiment schlagend bewiesen, daß tatsächlich in den Futtermitteln der Ueberträger dieser sich von der allgemein bekannten, akuten, septikämischen Form des Milzbrandes scharf unterscheidenden lokalen und chronischen Infektion zu sehen ist.

Die Erklärung für diese eigentümliche Abart des Milzbrandes kann in 2 Richtungen gesucht werden, einmal in einer von anderen, stark empfänglichen Tierarten abweichenden Disposition, einer natürlichen Resistenz des Schweines und andererseits in besonderen Eigentümlichkeiten, etwa in einer herabgesetzten Virulenz der die lokale Erkrankung bewirkenden Milzbrandstämme. Die erste Möglichkeit ist bisher meines Wissens vorzugsweise in Betracht gezogen worden. Eine experimentelle Stütze hat sie in den Versuchen Zwicks an Ratten gefunden, die ebenfalls als resistent gegen den Milzbrand bekannt sind.

Bei subkutaner Verimpfung von Milzbrandbazillen an Ratten starb nicht ganz die Hälfte an Milzbrand, und zwar $^1/_4$ innerhalb der ersten 8 Tage nach der Impfung und die übrigen innerhalb 16—38 Tagen. Während bei den ersteren der Sektionsbefund dem beim akuten Impfmilzbrand der Mäuse üblichen entsprach, zeigten die letzteren Schwellungen der Lymphdrüsen mit Abszessen und Nekrosen, sowie in der Leber und der Milz, gelegentlich auch in der Niere unzählige Nekrosen von miliarem bis erbsengroßem Umfang. Bei den überlebenden Ratten war bei der späteren, zwischen dem 20. und 72. Tag erfolgenden Untersuchung in den inneren Organen von Milzbrand weder kulturell noch serologisch (mittels der Ascoli-Probe) etwas zu finden, während an der Impfstelle noch lebensfähige Milzbrandbazillen vorhanden waren. Fütterungsversuche an Ratten führten nur in 2 von 24 Fällen zu einer tödlichen Erkrankung; der Obduktionsbefund war dem bei der subkutanen Infektion ähnlich.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zweifelsohne zeigen diese Experimente gewisse Analogien mit dem Schweinemilzbrand, insofern sich die erhöhte Resistenz der Ratten teils in völlig refraktärem Verhalten, teils in verzögertem Ablauf der Erkrankung äußert. Aber eine völlige Reproduktion des lokalen und chronischen Milzbrandes ist nicht gelungen, insofern, wie Zwick sagt, „der chronische Milzbrand bei den Ratten einen fortschreitenden Charakter aufzuweisen hatte und früher oder später zum Tode führte, während im Gegensatz dazu bei dem Schwein eine größere Neigung zur Lokalisation zu bestehen scheint. Eine endgültige Entscheidung, ob die natürliche Resistenz wirklich die einzige oder hauptsächliche Ursache für den besonderen Verlauf mancher Milzbrandinfektionen des Schweines ist, dürfte daher doch nur durch Versuche an dieser Tierart zu erzielen sein. Die Kriegsverhältnisse verboten indessen solche von selbst. Ich war daher von vornherein auf die zweite oben erwähnte Möglichkeit angewiesen, die von einer veränderten Wirksamkeit der in diesen Fällen beteiligten Milzbrandstämme ausgeht. Gerade wenn man in Rechnung zieht, daß die lokale und chronische Infektion des Schweines von in den ausländischen Futtermitteln enthaltenen Sporen ihren Ausgang nimmt, erscheint diese Annahme der Erwägung wert. Denn es wäre denkbar, daß die in den Futtermitteln enthaltenen Milzbrandkeime von minderer Virulenz wären, wobei eine natürliche Abschwächung in Frage käme, oder auch ein künstlich herbeigeführter Virulenzverlust — namentlich durch thermische Einflüsse bei der Herrichtung der Futtermittel. Die Voraussetzung hierfür wäre allerdings, daß in dem Urmaterial der Futtermittel die Keime noch im vegetativen, also beeinflußbaren Zustand, vorhanden sind, denn reife Sporen scheinen ja äußeren Einflüssen völlig entzogen zu sein, wofür die von Fischer auf weiten Seereisen durch alle Klimate mitgeführten und nach 28 Jahren von L. Bitter noch vollvirulent gefundenen Milzbrandsporen einen klassischen Beweis bilden.

Die Möglichkeit, den lokalen und chronischen Verlauf dieses Schweinemilzbrandes auf Eigenschaft des Bazillus zurückzuführen, schien mithin der Nachprüfung wert. Leider hat diese infolge der Kriegsverhältnisse sich in sehr engen Grenzen halten müssen, insofern sowohl die Zahl der mir zur Verfügung stehenden Stämme wegen des mit Kriegsbeginn einsetzenden Ausbleibens der Schweinemilzbranderkrankungen sehr beschränkt war, als auch wegen der durch die Ernährungsschwierigkeiten gebotenen Sparsamkeit hinsichtlich der Versuchstiere. Ich habe folgende Stämme geprüft:

1) Milzbrandstamm „Hamburg“ aus einer Gekrösdrüse eines im übrigen gesunden Schweines.
2) Milzbrandstamm „Schleswig I“ aus einer Halsdrüse eines lokal erkrankten Schweines.
3) Milzbrandstamm „Lödig“ aus einem ausländischen Futtermittel.
4) Pseudomilzbrandstamm „Schweinefleisch“ aus den Rachenorganen eines lokal erkrankten Schweines (vgl. diese Arbeit, Teil II. S. 441).

Zur Kontrolle wurde außerdem ein Rinder- und ein Menschen-Milzbrandstamm mitgenommen. Die erstgenannten 3 Stämme waren kulturell und morphologisch einwandfreie Vertreter der B. anthracis. Stamm „Hamburg“ und „Schleswig I“ waren aus typisch lokal erkrankten Schweinen gezüchtet. Stamm „Lödig“ — ebenfalls ein regelrechter B. anthracis — dagegen war im Kieler Tierseucheninstitut in einem ausländischen Futtermittel gefunden worden, stammte also aus dem für die lokale Erkrankung verantwortlichen Material. Ueber die Vorgeschichte und die kulturellen Eigenschaften des von mir aus einer Halsdrüse eines lokal er-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stammes	Herkunft des Stammes	Art der Impfung	Wirkung auf	
			weiße Mäuse	bunte Ratten
„Hamburg".	Aus einer vergrößerten Gekrösdrüse eines im übrigen völlig gesunden Schweines. (Bakteriol. Station der Polizeibehörde in Hamburg, Veterinärwesen.)	Je 1 Sporenfaden unter die Haut.	† nach 40—44 Std. Starkes Oedem der Impfstelle, in ihm stark bekapselte Bazillen. Aus den Organen in großen Mengen wiedergezüchtet.	† nach 72 Std. Oedem an der Impfstelle. Aus Herzblut und den Organen in großen Mengen wiedergezüchtet.
„Schleswig I".	Aus lokal erkranktem Schwein, Halsdrüse. (Veterinär-bakteriologisches Institut der Regierung zu Schleswig.)	Dgl.	† nach 30 Std. Starkes Oedem an der Impfstelle. Kapselbildung stark ausgesprochen. Aus den Organen wiedergezüchtet.	† nach 20 Std. Wie bei der Maus.
„Lödig".	Aus einem ausländischen Futtermittel. (Tierseucheninstitut Kiel.)	Dgl.	† nach 40 Std. Oedem an der Impfstelle mit Kapselstäbchen; aus den Organen wiedergezüchtet.	† nach 50 Std. Wie bei der Maus.
Pseudomilzbrand „Schweinefleisch" (vgl. diese Arbeit Abschn. II, S. 441).	Aus den Rachenorganen eines an lokalem Milzbrand erkrankten Schweines.	Dgl.	† nach 48 Std. Kein Oedem der Impfstelle. Aus dieser und den Organen wiedergezüchtet. Mehrfache Mäusepassage bewirkt keine ausgesprochene Pathogenität für Meerschweinchen.	Zunächst krank, dann Erholung. † nach 6 Wochen. Aus den Organen nicht gezüchtet. Pneumonie?

krankten Schweines gezüchteten Pseudomilzbrandstammes „Schweinefleisch" habe ich im 2. Abschnitt dieser Beiträge (siehe oben S. 443) ausführlich berichtet.

Ich habe ihn zum Vergleich herangezogen, da ich zunächst von dem Befund sehr überrascht war, um so mehr als ja, wie oben erwähnt, Poppe einen ähnlichen Befund mitgeteilt hat (vgl. Teil II, S. 435); die geringe Pathogenität im Gegensatz zu den echten Schweinemilzbrandstämmen sowie das Fehlen von anderen typischen Eigenschaften des B. anthracis hat mich aber davon überzeugt, daß hier eine zufällige Verunreinigung vorlag. Auch anderwärts scheint man mit solchen Pseudomilzbrandbefunden zunächst Schwierigkeiten gehabt zu haben. So warnt Zwick (a. a. S. 99) ausdrücklich davor, sich bei der Diagnose des chronischen Schweinemilzbrandes mit der mikroskopischen Untersuchung, dem Kulturverfahren und der Ascoli-Probe zu begnügen, sondern verlangt die Virulenzprüfung an Mäusen, um Pseudomilzbrandstämme auszuschließen. Ich möchte mich nach meiner in diesem Fall besonders eindringlichen Erfahrung dem nicht nur anschließen, sondern im Hinblick darauf, daß der von mir im Schweinefleisch gefundene Pseudomilzbrandstamm regelmäßig subkutan mit den üblichen Mengen geimpfte Mäuse tötete, darüber hinaus empfehlen, auch alle sonstigen diagnostischen Hilfsmittel, besonders die Prüfung der Kapselbildung, die ich bei Milzbrandähnlichen niemals sah, und des hämolytischen, oder besser gesagt, hämopeptischen Vermögens auf der Blutagarplatte, das im Gegensatz zum echten Milzbrand den Milzbrandähnlichen nach meinen in einem späteren Abschnitt noch zu besprechenden, mit den Ergebnissen Jármais übereinstimmenden Untersuchungen fast ausnahmslos zukommt, zu erschöpfen. Wäre ich nicht durch letzteres Merkmal sehr bald auf den

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sicht I.

Wirkung auf			
Meerschweinchen	Kaninchen	Ziege	Affe (Macacus rhesus)
† nach 52 Std. Befund wie bei Maus und Ratte.	† nach 70 Std. Geringes Oedem an der Impfstelle, in ihm nur spärliche Bazillen. Aus den Organen in großen Mengen gezüchtet.	Nicht geprüft.	† nach 48 Std. unmittelbar nach anscheinendem Wohlbefinden (apoplektiform). Aus den Organen wieder gezüchtet.
† nach 30 Std. } Wie bei der Maus.	† nach 30 Std. } Wie bei der Maus.	Nicht geprüft.	Nicht geprüft.
† nach 42 Std. } Wie bei der Maus.	† nach 52 Std. } Wie bei der Maus.	Nicht geprüft.	Nicht geprüft.
Zunächst krank, dann Erholung. Nach 4 Wochen getötet; aus der Impfstelle, Leber, Milz, Niere wiedergezüchtet.	† nach 4 Wochen. Aus der Impfstelle Eiter. Aus ihm, sowie Leber und Milz wiedergezüchtet.	Bleibt am Leben. Je eine zur Kontrolle mit einem aus einem Rind bzw. aus dem Menschen Milzbrandstamm. Ziegen gehen nach 40 bzw. 50 Std. an apoplektiformem Milzbrand ein.	In den ersten Tag. nach der Impfung sichtlich krank. Dann Erholung. Nach 3 Woch. getötet. Impfstelle in Narbengewebe eingebettet. Aus ihm etwa 20 Kolonien wieder gezüchtet. Organe steril. Ein zur Kontrolle mit einem vom Menschen stammenden Milzbrandstamm geimpfter Affe geht apoplektiform nach 50 Std. ein. Aus den Organen massenhaft gezüchtet.

richtigen Weg geführt worden, so hätte ich wahrscheinlich lange Zeit geglaubt, einen echten, wenn auch schwachvirulenten Schweinemilzbrandstamm gezüchtet zu haben.

Zu den systematischen Tierversuchen benutzte ich — nach Anstellung einer Reihe von Einzelversuchen, die stets ein gleichsinniges Ergebnis hatten — eine Tierreihe, bestehend aus Maus (weiß), Meerschweinchen, Ratte (bunt) und Kaninchen. Infolge der durch die Kriegszeit gebotenen Einschränkung unseres Tierbestandes konnte ich in einzelnen Fällen auch noch Ziegen und Rhesus-Affen heranziehen. Die Impfung erfolgte stets subkutan, und zwar mit Sporenfäden von etwa 1 cm Länge, die ich von allen Stämmen möglichst bald nach ihrer Reinzüchtung aus versporten Agarkulturen gewann. Virulenzänderungen in der Zeit zwischen Erstzüchtung und den in Rede stehenden Versuchen sind also so gut wie ausgeschlossen. Die einzelnen Ergebnisse sind in der nachstehenden Uebersicht verzeichnet:

Das Gesamtergebnis läßt sich dahin zusammenfassen, daß bei subkutaner Impfung ein Unterschied in der Tierpathogenität der geprüften Schweinemilzbrand- und des Futtermittelstammes gegenüber anderen Milzbrandstämmen nicht besteht. Einschränkend ist allerdings die geringe Zahl der geprüften

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stämme in Rechnung zu ziehen. Die wünschenswerte und geplante Ergänzung dieser Ergebnisse durch die dem natürlichen Infektionsmodus besser entsprechenden Fütterungsversuche mußte ich mir infolge Tiermangels leider versagen.

Einen anderen Weg, den lokalen und chronischen Schweinemilzbrand experimentell in Beziehungen zur Virulenz der infizierenden Stämme zu bringen, zeigt folgende Fragestellung. Führen Milzbrandstämme beliebiger Herkunft, aber mit abgeschwächter Virulenz im Tierversuch zu lokalen und chronischen Erkrankungen?

Zufälligerweise befand sich unter den Milzbrandstämmen der Sammlung des Hygienischen Institutes einer, der im Laufe der Jahre seine Pathogenität so gut wie völlig eingebüßt hatte; nur in sehr großen Dosen tötete er noch Mäuse, und das auch nicht regelmäßig, so daß er für Kurszwecke nicht mehr in Frage kam. An seiner Echtheit kann trotzdem kein Zweifel bestehen, dafür bürgt seine Herkunft aus einem Milzbrandkarbunkel und sein typisches Verhalten in morphologischer, kultureller und fermentativer Hinsicht. Er schien mir für den Versuch einer experimentellen Beantwortung der obigen Frage geeignet. Zu diesem Zwecke infizierte ich mehrfach Serien von Mäusen subkutan mit Sporenfäden, und stellte dadurch, daß ich von Zeit zu Zeit ein Tier der Serie tötete, obduzierte und bakteriologisch untersuchte, fest, ob Veränderungen, die auf Ansiedlung der Bazillen deuteten, vorhanden wären, und ob aus den Organen Milzbrandkeime sich züchten ließen. Da mir bei den ersten Versuchen, bei denen eine Beobachtungsdauer von 4 Wochen eingehalten wurde, eine deutliche Milzvergrößerung sowie Drüsenschwellungen für eine leichte chronische Erkrankung der Mäuse zu sprechen schienen, habe ich bei meinem letzten und ausgedehntesten diesbezüglichen Versuche für die Frage der Milzschwellung objektive Anhaltspunkte zu gewinnen gesucht, indem ich bei der Obduktion das Gewicht der Milz auf einer Analysenwage feststellte und zum Körpergewicht in prozentuale Beziehung brachte. Das Gleiche geschah bei einer Anzahl von Kontrollmäusen. Auch die bakteriologische Untersuchung der Organe wurden hier möglichst vollkommen gestaltet, insofern durch Einlegen der getöteten Maus in Brennspiritus, Abtropfenlassen und anschließendes Abbrennen des Spiritus eine einwandfreie bakteriologische Untersuchung angestrebt wurde; um auch vereinzelte Keime zu erfassen, wurden die Organe nicht nur direkt auf Platten, sondern auch nach Anreicherung in Bouillon ausgesät. Der Verlauf dieses Versuches, der sich über 66 Tage erstreckte und 8 Mäuse umfaßte, geht aus der nachstehenden Uebersicht II hervor. Pathologische Veränderungen der Organe makroskopischer Art wurden nicht gefunden; hinsichtlich der Milzvergrößerung ergaben sich stark schwankende Zahlen, die zeigen, daß man mit der makroskopischen Feststellung einer Milzvergrößerung bei Mäusen außerordentlich vorsichtig sein muß, zumal auch die Kontrollmäuse ähnlich schwankende Ziffern aufwiesen. Ein regelmäßiges Ansteigen über den Durchschnitt der Kontrollmäuse war nicht festzustellen. Auch die bakteriologische Untersuchung sprach nicht für eine Ansiedlung der Bazillen; wenn auch aus der Milz, der Leber, den Lungen und den Nieren hier und da Milzbrandkeime gezüchtet wurden, kann doch von einer Regelmäßigkeit nicht gesprochen werden. Da die Zahl der direkt gewachsenen Kolonien stets sehr gering war, scheint es mir nicht ausgeschlossen, daß es sich hier um einzelne von der Impfstelle aus in den Organismus verschleppte Sporen handelt, die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Uebersicht II.

Maus Nr.	Getötet nach	Gewicht der Milz in Prozenten[1]) des Körpergewichts	Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung						
			Impfstelle	Herzblut	Milz	Leber	Niere rechts	Niere links	Lungen
1	7 Tagen	0,64 Proz.	+	—	—	—	—	—	—
2	10 „	0,56 „	+	—	+	+	—	—	—
3	14 „	0,77 „	+	—	+	—	—	—	—
4	17 „	0,73 „	+	—	—	—	—	—	—
5[2])	21 „	0,47 „	+	—	+	—	—	—	+
6	28 „	0,58 „	+	—	—	—	—	+	+
7	35 „	1,65 „	+	—	—	—	—	—	—
8	66 „	0,35 „	—	—	—	—	—	—	—

vielleicht erst nach dem Tode des Tieres in den Nährböden auskeimten. Aus den Impfstellen, die keine stärkere Reaktion zeigten, wurden bis zum 35. Tage die Keime gezüchtet, nur bei der letzten Maus, die nach 66 Tagen getötet wurde, gelang das nicht; da in den vorhergehenden Versuchen, die sich allerdings nur über 4 Wochen erstreckten, stets aus der Impfstelle noch gezüchtet wurde, so steht jedenfalls fest, daß die Sporen des avirulenten Stammes sich mindestens 4 Wochen lang im lebenden Organismus halten, ob länger, bleibe dahingestellt. Zwick hat bei seinen Versuchen mit Schweinemilzbrandstämmen an Ratten gefunden, daß die subkutan verimpften, aus 24—48-stünd. Kulturen stammenden Bazillen noch nach 72 Tagen an der Impfstelle nachweisbar waren. In meinem Versuche scheint es fraglich, ob die avirulenten Sporen ebenso dauerhaft waren, wie die für Ratten wenig virulenten, zum Teil vermutlich ebenfalls bereits in Dauerformen verwandelten Bazillen Zwicks. Jedenfalls zeigt mein Versuch deutlich, daß eine Daueransiedlung der avirulenten Milzbrandbazillen außerhalb der Impfstelle im Körper nicht stattgefunden hat. Da die Maus für Milzbrand höchst empfänglich ist, kann man annehmen, daß avirulente Milzbrandstämme in wenig disponierten Tierarten, z. B. in Schweinen, erst recht nicht haften werden; und was für die subkutane Impfung, die den natürlichen Gewebsschutz durchbricht, gilt, dürfte für die Fütterung noch mehr zutreffen. Der Hypothese, daß völlig avirulente Stämme sich im Schweine ansiedeln können, ist damit der Boden entzogen; in Frage kommen könnten wohl nur solche von teilweise herabgesetzter Virulenz. Ob die Schweinemilzbrandstämme aber solche sind, scheint nach meinen zuerst dargestellten Virulenzprüfungen ebenfalls wenig wahrscheinlich. Mithin dürfte in der Zurückweisung dieser Möglichkeiten die Anschauung, daß die natürliche Resistenz des Schweines der ausschlaggebende Faktor für die Entstehung des lokalen und chronischen Milzbrandes ist, eine Stütze finden.

Literatur.

1) Bitter, L., Ztschr. f. Hyg. Bd. 69. S. 483. — 2) Elsässer u. Siebel, Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Bd. 22. 1912. S. 209; Bd 23. 1913. S. 428. — 3) Glage, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1912. S. 1667. — 4) Greve, Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. Bd. 23. 1913. S. 433. — 5) Jármai. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. S. 72. — 6) Meyer, Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Bd. 23. 1913. S. 391. — 7) Poppe, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. Beih. S. 277. — 8) Schmitz, Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Bd. 23. 1913. S. 289. — 9) Zwick, Ztschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 14. 1913. S. 91.

1) Die entsprechenden Zahlen der Kontrollmäuse schwanken zwischen 0,48 und 0,77 Proz. (0,6 Proz. Durchschnitt).

2) Unter der Haut im linken Hypochondrium eine hanfkorngroße, ziemlich harte Geschwulst, aus der Milzbrandbazillen gezüchtet werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Die Maul- und Klauenseucheimmunität nach künstlicher und spontaner Infektion sowie nach simultaner Impfung.

[Aus der Staatlichen Forschungsanstalt Insel Riems (Leiter: Dr. O. Waldmann).]

Von Dr. **O. Waldmann** und Dr. **K. Trautwein.**

Gelegentlich eines Vortrags auf der 9. Tagung der deutschen Vereinigung für Mikrobiologie in Würzburg 1922 sind von uns Mitteilungen über unsere Untersuchungen über Maul- und Klauenseucheimmunität gemacht worden. Wir haben zunächst an Schweinen experimentiert und bei diesen Tieren das Auftreten von Immunitätserscheinungen zu einem verhältnismäßig sehr frühen Zeitpunkt feststellen können. Des Zusammenhangs wegen seien diese Versuche hier kurz wiederholt[1]).

25 Schweine im Gewicht von 160—200 Pfd., wie sie zur Lymphegewinnung bei der Hyperimmunisierung der Serumrinder benutzt werden, wurden in der üblichen Weise mit 0,2—0,5 ccm Schweinelymphe intravenös infiziert. Nach 24 Std. begannen die Tiere zu fiebern, nach 2mal 24 Std. trat in der Regel die allgemeine Blaseneruption an allen 4 Beinen und an der Zunge auf. Etwa 10 Proz. aller infizierten Schweine erkrankten auch an der Rüsselscheibe.

Wir haben nun bei 20 Tieren, die nicht an der Rüsselscheibe erkrankt waren, die intrakutane Superinfektion mit der gleichen Virusmenge, wie sie zur 1. Infektion benutzt wurde, vorgenommen, und zwar in verschieden langen Zeitabständen nach der 1. Infektion. Dabei war festzustellen, daß die Superinfektion so lange regelmäßig anging, d. h. zur Aphthenbildung an der Impfstelle führte, als die allgemeine Blaseneruption noch nicht eingesetzt hatte. Waren bereits Entzündungserscheinungen, Rötung, Schwellung und vermehrte Wärme, oder frische Aphthen an den Beinen festzustellen — meist 2mal 24 Std. nach der Erstinfektion — so blieb die Superinfektion immer erfolglos.

Wir schließen daraus, daß beim spontan empfänglichen Tier gleichzeitig oder unmittelbar nach der allgemeinen Blaseneruption eine absolute Gewebsimmunität einsetzt, die das Angehender Superinfektion verhindert. Der Zeitpunkt des Auftretens dieser Gewebsimmunität fällt ungefähr zusammen mit dem Zeitpunkt, an dem gewöhnlich das Virus aus dem Blute verschwindet (v. Seigneux)[2]).

Auftreten der Immunkörper im Blute. Unsere weiteren Versuche, über die wir im folgenden berichten, dienten der Feststellung, zu welchem Zeitpunkt bei der Maul- und Klauenseuche die Immunkörper im Blute auftreten. Zu unseren Versuchen benutzten wir zunächst Meerschweinchen. Wie in der Riemser Anstalt zuerst nachgewiesen werden konnte, ist das Meerschweinchen, ohne spontan empfänglich zu sein, leicht zu infizieren. Der Infektionsablauf stimmt zeitlich ungefähr mit dem bei einem spontan empfänglichen Tiere überein. Bei kutaner Infektion an der Planta pedis tritt innerhalb 24 Std. die Primär-

1) Siehe auch Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1921. Nr. 30. S. 352.
2) Berlin. tierärztli. Wochenschr. 1922. Nr. 2. S. 16.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aphthe auf und nach 48 Std. die Generalisation an der Sohlenhaut der übrigen Beine und an der Zunge.

Sofern zur Infektion stets Primäraphtheninhalt benutzt wird, läßt sich ein Virusstamm beliebig lange weiterzüchten. Zurzeit hat unser Inselstamm ohne Wechselpassagen über ein spontan empfängliches Tier die 610. Generation erreicht, ohne in seiner Virulenz für Rinder und Schweine eine Abschwächung erfahren zu haben.

Der Immunkörpergehalt eines spezifischen Serums tritt nach passiver Einverleibung beim Meerschweinchen wie bei spontan empfänglichen Tieren in der Weise zutage, daß bei der Infektion der so vorbehandelten Tiere zwar die Primäraphthe zur Ausbildung gelangt, die Generalisation aber ausbleibt.

Die passive Immunisierung macht also beim Meerschweinchen, ebensowenig wie bei spontan empfänglichen Tieren, auch bei Verwendung größter Serummengen, nicht unempfänglich gegen die Infektion.

Zur Feststellung des frühesten Zeitpunktes des Auftretens der Immunkörper im Blute des Meerschweinchens gingen wir in der Weise vor, daß wir Meerschweinchen (Spendertiere) zu verschiedenen Zeiten p. i. total entbluteten. Die geringste Frist betrug 2 Tage, die längste 11 Tage p. i. Die so gewonnene Gesamtblutmenge wurde defibriniert und sofort subkutan auf ein Meerschweinchen (Impftier) verimpft, das gleichzeitig an einer Planta kutan mit Passagevirus infiziert wurde. Das Ergebnis des Versuches ist in folgender Tabelle dargestellt.

Tabelle 1.

Blutspender		Impftier		Blutspender		Impftier	
Meerschw.	Entblutet	Meerschw.	Ergebnis	Meerschw.	Entblutet	Meerschw.	Ergebnis
209/210	2 Tge. p. i.	228	† nach 2 Tagen	314	6 Tge. p. i.	346	Generalisierte Aphthen nach 96 Std.
206	3 Tge. p. i.	225	Generalisierte Aphthen nach 48 Std.	302	7 Tge. p. i.	345	Primäraphthen, keine Generalisation
205	3 Tge. p. i.	227	Generalisierte Aphthen nach 72 Std.	301	7 Tge. p. i.	344	Primäraphthen, keine Generalisation
204	4 Tge. p. i.	224	Generalisierte Aphthen nach 96 Std.	291	8 Tge. p. i.	342	Primäraphthen, keine Generalisation
203	4 Tge. p. i.	223	Generalisierte Aphthen nach 72 Std.	290	8 Tge. p. i.	341	Primäraphthen, keine Generalisation
192	5 Tge. p. i.	222	Generalisierte Aphthen nach 72 Std.	264	11 Tg. p. i.	343	Primäraphthen, keine Generalisation
191	5 Tge. p. i.	221	Generalisierte Aphthen nach 48 Std.			349	Kontrolle, Generalisation nach 48 Std.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß die vom 7. Tage p. i. ab jeweils gewonnene Gesamtblutmenge die damit gespritzten Impftiere vor generalisierter Erkrankung zu schützen vermochte.

Bei einem zweiten auf dieselbe Weise angestellten Versuch, wobei statt Blut das Serum allein zur Verimpfung kam, ließen sich die Immunkörper mit Sicherheit vom 8. Tage p. i. ab nachweisen,

Zur Ermittlung des ersten Auftretens von Immunkörpern im Blute des Rindes wurden nach einigen Tastversuchen folgende Hauptversuche angesetzt:

Von den zur Serumgewinnung bestimmten Rindern wurden 2 ausgewählt, die die Erkrankung in typischer Form zeigten. Dieselben waren

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit 0,1 ccm Schweinelymphe intrakutan an der Oberlippe infiziert worden. Außerdem wurden mit der Impflanzette einige Skarifikationen an der Zunge gesetzt und ein Tröpfchen Schweinelymphe aufgeträufelt. Die Tiere erkrankten lokal innerhalb 24 Std. ohne wesentlichen Temperaturanstieg. Nach 30—36 Std. setzte eine Temperaturerhöhung auf 39,8 bis 40,0 ein, und nach 48—42 Std. trat generalisierte Aphthenbildung an den Klauen auf. Vom 2. bzw. 3. Tag von der Infektion ab wurde täglich Blut entnommen. Das Serum der einzelnen Blutproben wurde in maximalen Mengen, fraktioniert 2×5 ccm innerhalb 12 Std., Meerschweinchen im Gewicht von 300—350 g subkutan injiziert und unmittelbar nach der Injektion des Serums die kutane Infektion mit frischer Meerschweinchenlymphe an der linken Planta vorgenommen. Von Rind 1 wurde das Serum der am 2., 4., 6., 8. Tage p. i. entnommenen Blutproben, von Rind 2 das Serum der am 2., 3., 4., 5. Tage p. i. entnommenen Blutprobe geprüft. Das Ergebnis des Versuches zeigt folgende Tabelle.

Tabelle 2.

	Rind 1					Rind 2				
Impftier	Me. 360	Me. 359	Me. 329	Me. 331	Me. 336	Me. 518	Me. 376	Me. 369	Me. 370	Me. 382
Serumentnahme Tage p. i.	2 Tage p. i.	4 Tage p. i.	6 Tage p. i.	8 Tage p. i.	Kontrolle	2 Tage p. i.	3 Tage p. i.	4 Tage p. i.	5 Tage p. i.	Kontrolle
Ergebnis: 1. Tag p. i.	Primäraphthe	Primäraphthe	Primäraphthe	Primäraphthe	Primäraphthe	Primäraphthe	Primäraphthe	Primäraphthe	Primäraphthe	Primäraphthe
2. „ „	Generalis. rechte Planta	—	—	—	Generalisiert Volae	—	—	—	—	Generalis. Zungenaphthe
3. „ „	Aphthen an den Volae	—	—	—	—	—	—	—	—	Generalisiert Volae
4. „ „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5. „ „	—	—	—	—	—	—	—	Generalis. rechte Planta	—	—
6. „ „	Beginnende Abheilung	—	—	—	—	—	—	Generalisiert Volae	—	—
7 „ „	—	—	—	—	Beginnende Abheilung	Generalisiert Volae	—	—	—	—
8. „ „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Abheilung

Rind 1: Danach waren bei diesem Rind am 2. Tage p. i. in der gespritzten Serummenge noch keine Schutzkörper vorhanden. Die Krankheit verlief bei dem vorbehandelten Meerschweinchen wie bei der unvorbehandelten Kontrolle. Am 4. Tage zeigte das Serum schon maximale Schutzwirkung. Die Generalisation blieb in diesem Falle ebenso wie bei dem mit 6- und 8-tägigem Serum gespritzten Tiere aus.

Rind 2: Dieser Versuch verlief nicht gleichmäßig. Zweifellos sind bei diesem Tiere schon am 2. Tage in der gespritzten Serummenge eine gewisse Menge Schutzkörper nachzuweisen. Das Ergebnis der Prü-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fung am 3. und 4. Tage läßt auf Schwankungen im Schutzkörpergehalt schließen.

Vorstehende Versuche zeigen, daß beim spontan empfänglichen Rinde die Bildung der Schutzkörper schon zu einem viel früheren Zeitpunkt nachgewiesen werden kann, als man bis jetzt angenommen hatte.

Von Interesse war nun, durch das Experiment die quantitativen Verhältnisse genauer kennen zu lernen. Die Auswertung der Mischsera beider Rinder an den einzelnen Tagen im Prüfungsversuch am Meerschweinchen hatte folgendes Ergebnis:

Das Serum, das den Tieren am 4. Tage p. i. entnommen wurde, übte in der Menge von 5, 2 und 1 ccm keine Schutzwirkung aus, dagegen waren am 5. Tage p. i. bereits so viel Immunkörper gebildet, daß das Serum noch in der Menge von 0,5 ccm das damit vorbehandelte Meerschweinchen vor generalisierter Erkrankung zu schützen vermochte.

Es war also bereits nach 5 Tagen maximale Konzentration der Immunkörper im Blute nachzuweisen.

Versuche in genau derselben Anordnung wie bei den Rindern wurden an 3 Schweinen vorgenommen. Wir dürfen uns daher auf die Mitteilung des Ergebnisses beschränken. Erwähnt muß werden, daß wir nicht das Serum der 3 Tiere getrennt, sondern als Mischserum geprüft haben.

Eine Schutzwirkung des den Prüfungstieren in einer Menge von 10 ccm eingespritzten Mischserums war erstmalig am 4. Tage festzustellen. Die Titration ergab, daß bereits am 5. Tage p. i. die maximale Konzentration der Schutzkörper eingetreten war. Demnach liegen bei den Schweinen ähnliche Verhältnisse vor wie bei den Rindern.

Die Frage, wie lange sich die Schutzkörper beim durchseuchten Tier auf ihrer maximalen Höhe halten, wird durch weitere Versuche entschieden werden. Bis jetzt wissen wir aus der Prüfung von Mischsera aus durchseuchten Beständen, daß die schützende Dosis für Meerschweinchen 14 Tage bis 3 Wochen nach der Durchseuchung 1—2 ccm beträgt.

Aus den vorstehenden Versuchen ergibt sich bis jetzt folgende bemerkenswerte Tatsache:

Während im zeitlichen Ablauf der Maul- und Klauenseucheinfektion zwischen dem spontan empfänglichen Rind und Schwein und dem Meerschweinchen weitgehende Uebereinstimmung besteht, sehen wir bezüglich der Immunkörperbildung Unterschiede.

Das Meerschweinchen braucht zur Bildung einer experimentell nachweisbaren Immunität 7—8 Tage p. i. Bei Rind und Schwein ist die Immunkörperbildung vom 2. Tage nach der Infektion nachweisbar und erreicht schon am 5. Tage ihre maximale Konzentration im Blute. Das spontan empfängliche Rind und Schwein hat eine gegenüber dem spontan nicht empfänglichen Tier gesteigerte Fähigkeit zur Immunkörperbildung.

[Nach Versuchen von Ernst[1]) sollen sich auch beim Meerschweinchen Immunstoffe bereits am 4.—5. Tage in meßbarer Menge nachweisen lassen.]

Die Wirkungsweise des Immunserums im Reagenzglasversuch ist, wie bereits Loeffler[2]) festgestellt hat, eine virulizide. Doch sind verhältnismäßig große Serummengen nötig, um sichere Abtötung des Virus zu erreichen. Folgender Versuch mag das veranschaulichen.

1) München. tierärztl. Wochenschr. Jhrg. 73. Nr. 25. S. 552.
2) Zusammenfassender Bericht an den Kultusminister. 1906.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 3.

Infektion mit Mischung von	Immunserum + Schweinelymphe								Normalserum + Schw.-Ly.
	1:0,1	1:0,5	1:1	1:2	1:3	1:4	1:5	1:6	1:6
Meerschw.	396	395	394	399	526	527	528	529	523 Kontr.
Ergebnis: 1. Tag p. i.	Keine Reaktion	Keine Reaktion	Keine Reaktion	Keine Reaktion	Keine Reaktion	Keine Reaktion	Keine Reaktion	Keine Reaktion	Primäraphthen
2. „ „	—	—	—	—	—	Primäraphthen, r. Placenta	—	—	Primäraphthen
3. „ „	Primäraphthen	Primäraphthe	Primäraphthen	Primäraphthen	—	General., Zungenaphthen	—	—	General., Zungenaphthen
4. „ „	—	—	—	—	Primäraphthen	Volaraphthen	—	—	—
5. „ „	—	Generalisation, Zunge	General., Zunge, Volae	General. Zungenaphthen	General., Zungenaphthen	—	—	—	—
6. „ „	General., Zunge, Volae	—	—	—	—	—	—	—	—
7. „ „	—	—	—	—	—	—	—	—	Im Abheilen
8. „ „	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Das in dem Versuch zur Anwendung gekommene Maul- und Klauenseuche-Immunserum war unkarbolisiert und besaß die Wertigkeit 0,2. Es wurde in steigenden Mengen mit konstanten Mengen Schweinelymphe versetzt. Nach $1^1/_2$-stünd. Aufbewahrung im Dunkeln bei Zimmertemperatur (7 Grad) wurde die Mischung auf je 1 Meerschweinchen kutan plantar verimpft. Aus der Tabelle geht hervor, daß das Immunserum in der 5- und 6-fachen Menge die Ansteckungsfähigkeit der Schweinelymphe vernichtet hat. Alle anderen Tiere, einschließlich der Kontrolle, die mit einem Lymphe-Normalserumgemisch 1:6 infiziert wurde, erkrankten an generalisierter Maul- und Klauenseuche. Das verzögerte Angehen der Infektion bei den mit kleineren Dosen behandelten Tieren läßt eine gewisse abschwächende Wirkung des Serums auf die Lymphe auch in diesen Fällen nicht verkennen.

Der Nachweis von komplementablenkenden Stoffen im Immunserum ist uns nicht geglückt. Wir haben Immunsera von Rind, Schwein und Meerschweinchen unter Verwendung von Blaseninhalt homologer und heterologer Herkunft im Ablenkungsversuch geprüft. Auch die Modifikationen (Konglutinationsmethode usw.) wurden angewandt, ohne zu einem einwandfreien Ergebnis zu führen.

Ueber ähnliche negative Resultate wird von Ernst[1]) berichtet.

Erlöschen der Immunität. Das Ergebnis der eingangs angeführten Versuche an Schweinen zeigt, wie rasch es bei spontan empfänglichen Tieren zur Ausbildung einer histogenen Immunität kommt. Bereits nach 2mal 24 Std. p. i. ist sie in der Regel vorhanden. Die

1) München. tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 73. Nr. 25. S. 552.
2) La Clinica veterinaria. 1916. p. 257.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weiteren Versuche haben ergeben, daß diese histogene Immunität beim Rind und Schwein nach 1 bzw. 2 weiteren und beim Meerschweinchen nach 5 weiteren Tagen mit dem Auftreten der Immunkörper im Blut zu einer totalen wird. Wir halten es für zweckmäßig mit Terni[1]) an der Unterscheidung zwischen histogener oder Gewebsimmunität und humoraler oder Blutimmunität festzuhalten. Das Verständnis der Vorgänge beim Erlöschen der Immunität wird dadurch erleichtert. Denn diese beiden Etappen in der Entstehung der totalen Immunität (Gewebsimmunität — Blutimmunität) können wir auch beim Verschwinden der Immunität beobachten.

Die praktisch sehr wichtige Frage nach dem Erlöschen der Totalimmunität untersuchten wir zunächst wieder durch das Experiment am Meerschweinchen.

Wir unterzogen zu diesem Zweck 49 durchgeseuchte Meerschweinchen zu verschiedenen Zeiten p. i. einer zweiten Infektion. Ueber das Ergebnis dieser Reinfektionsversuche gibt folgende Tabelle Auskunft.

Tabelle 4.

Reinfektion, Tage p. i.	8	11	13	14	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	29	35	38	40	42	44	48	49	51	60	62	63	67	120
Zahl der Tiere	1	1	1	1	3	1	2	1	3	2	1	2	1	1	3	2	1	2	5	1	1	1	3	2	1	1	1	4
Ergebnis:																												
Primäraphthen	1	1	1	1	3	1	2	1	3	2	1	2	1	1	3	1	1	1	4	1	1	1	1	2	1	1	1	1
Generalisierte Aphthen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	1	—	—	—	2	—	—	—	—	3

Die meist mit 8 Tagen p. i. vorhandene Immunität verhindert von diesem Zeitpunkt das Angehen einer 2. Infektion. Die totale Immunität dauert beim Meerschweinchen in der Regel 3 Monate. Nach dieser Zeit und vereinzelt auch schon einige Wochen früher reagieren die reinfizierten Tiere mit Primäraphthen. Die histogene Immunität ist also erloschen. Die Generalisation wird aber durch die noch vorhandene Blutimmunität verhindert. Letztere scheint sich sehr lange, bis zu einem Jahre, zu erhalten, wie aus vereinzelten Versuchen am Meerschweinchen hervorgeht. Größere Reihenversuche vereitelte der Ausbruch einer heftigen Meerschweinchenseuche[1]).

Eine Durchführung der Versuche bei spontan empfänglichen Tieren ist wegen der großen Kosten vorläufig leider nicht möglich. Nach einigen von uns gelegentlich gemachten Beobachtungen scheint beim Rinde die Frist für das Erlöschen der histogenen Immunität nicht viel länger zu sein. Von 5 Rindern, die 7—8 Mon. nach spontaner Erkrankung intrakutan reinfiziert wurden, bekamen 4 Impfaphthen. Die Generalisation blieb aus. Die andere Kuh erwies sich auch noch als lokal immun.

Zur Beurteilung der Dauer der Blutimmunität fehlen uns noch größere Beobachtungsreihen. Wir haben bis jetzt an 30 angekauften

1) Vallée u. Carré (C. R. Acad. Sc. vom 16. Jan. 1922. p. 217) erklären verschiedene Beobachtungen über Immunität mit der „Pluralität" des Maul- und Klauenseuchevirus. Demnach soll Infektion mit Virus „O", französischen Ursprungs nicht immunisieren gegen Virus „A", deutschen Ursprungs. Das trifft nach unseren Untersuchungen nicht zu. Durch freundliche Vermittlung von Prof. Terni-Mailand, erhielten wir Virus italienischer und später auch französischer Herkunft. Beide Virusstämme waren für das Meerschweinchen virulent. Kreuzweise vorgenommene Reinfektionsversuche an je 10 Meerschweinchen widerlegen die Ansicht der genannten Autoren. Innerhalb der oben erwähnten Zeit war die totale Immunität in der Regel nicht zu durchbrechen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Serumrindern, bei denen wir den Zeitpunkt der Durchseuchung ermitteln konnten, feststellen können, daß nach etwa $1^1/_2$ Jahren bei 8 die Blutimmunität erloschen und die volle Empfänglichkeit der Tiere wieder vorhanden war. Bei den übrigen kam es zu mehr oder weniger deutlicher Ausbildung von Imphaphthen.

Unsere Versuchsergebnisse widersprechen teilweise den Beobachtungen in der Praxis, bei denen übrigens über die Dauer der Immunität bei Maul- und Klauenseuche recht verschiedene Angaben gemacht werden. Loeffler[1]) hat die Immunitätsdauer auf mindestens 1 Jahr angegeben. Dies trifft nach unseren Beobachtungen nicht zu.

Es muß aber hervorgehoben werden, daß wir bei unseren Reinfektionsversuchen stets mit unserem heute noch hochvirulenten Inselstamm arbeiteten, stets die kutane Infektion an einer der dauernden Beobachtung leicht zugänglichen Stelle (Flotzmaul, Lippe) wählten und auf diese Weise lokale Veränderungen feststellen konnten, die bei spontaner Infektion (Beobachtungen der Praxis) erfahrungsgemäß leicht übersehen werden können.

Immunität nach Simultanimpfung. Von praktischer Bedeutung erschien uns die Klärung der Frage, wie sich die Immunitätsverhältnisse bei Tieren gestalten, die simultan geimpft, d. h. gleichzeitig mit der kutanen Infektion subkutan mit Immunserum gespritzt wurden. Bekanntlich findet die hauptsächlichste Anwendung des Immunserums in der Praxis in der Weise statt, daß in einem Bestande nach Feststellung der Seuche die noch nicht erkrankten Tiere des Bestandes mit Serum vorbehandelt und unmittelbar danach mit virulentem Material (Speichel eines frisch erkrankten Tieres) durch Einreibung auf die Maulschleimhaut infiziert werden. Unter dem Schutze des Serums erkranken die Tiere nur sehr leicht, Todesfälle werden vermieden und die sehr ins Gewicht fallenden Verluste an Milch und bei Masttieren auch an Körpergewicht werden wesentlich beschränkt.

Es ist nun von Interesse festzustellen, welchen Einfluß die Simultanimpfung auf die Ausbildung der Immunität ausübt, bzw. ob wir bei simultan geimpften Tieren die gleichen Immunitätsverhältnisse vorfinden wie bei den normal durchgeseuchten.

Wir arbeiteten dabei wiederum zunächst an Meerschweinchen. Den Versuchen dienten 73 Tiere, die zuvor der Auswertung des Rinderimmunserums gedient hatten. Die eingespritzten Mengen bei der Serumprüfung schwankten zwischen 0,1 und 0,5 ccm bei der Prüfung des Serums von hyperimmunisierten Tieren und zwischen 1 und 4 ccm bei der Prüfung des Serums von Rekonvaleszenten. Von diesen 73 simultan geimpften Meerschweinchen waren 59 lokal und 14 mit unterschützenden Dosen gespritzte generalisiert erkrankt.

Von den lokal erkrankten Tieren wurden reinfiziert: 22 nach 8 bis 9 Tagen (Gruppe I), 4 nach 11—12 Tagen (Gruppe II), 25 nach 16 bis 45 Tagen in Etappen von 1—3 Tagen (Gruppe III), 8 nach 57 Tagen (Gruppe IV).

Von den Tieren der Gruppe I erkrankten bei der Reinfektion 12 lokal und 10 generalisiert.

Von den Tieren der Gruppe II erkrankten bei der Reinfektion 1 lokal und 2 generalisiert, 1 Tier erwies sich total immun.

1) Zusammenfassender Bericht an den Kultusminister 1906.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Von den Tieren der Gruppe III erkrankten bei der Reinfektion 23 Tiere lokal, 2 generalisiert.

Von den Tieren der Gruppe IV erkrankten bei der Reinfektion 3 lokal, 2 generalieiert, 3 Tiere erkrankten gar nicht.

Bei den mit unterschützenden Dosen Rinderserum vorbehandelten und danach generalisierten Tieren war das Ergebnis der Reinfektionsversuche folgendes:

Es wurden reinfiziert: 3 Tiere nach 8 bzw. 9 Tagen (Gruppe I), 7 Tiere nach 11, bzw. 12 Tagen (Gruppe II), 4 Tiere nach 16—45 Tagen (Gruppe III).

Von den Tieren der Gruppe I erkrankten bei der Reinfektion alle 3 Tiere generalisiert.

Von den Tieren der Gruppe II erkrankten bei der Reinfektion 5 Tiere lokal, 2 erwiesen sich total immun.

Von den Tieren der Gruppe III erkrankten bei der Reinfektion 2 lokal, 2 waren total immun.

Vorstehende Uebersicht über die Reinfektionsversuche ergibt die zunächst unerwartete Tatsache, daß von den 73 simultan vorbehandelten Meerschweinchen nur 8, das sind 11 Proz., totale Immunität erworben und auf die Reinfektion nach 12, 16 und 57 Tagen p. i. nicht reagiert haben. 4 von den erwähnten 8 Tieren waren bei der Erstinfektion generalisiert erkrankt, die übrigen 4 nur lokal. Von den restlichen 65 Tieren erkrankten bei der Reinfektion 46 lokal. Davon waren bei der Erstinfektion 7 generalisiert erkrankt. 19 erkrankten bei der Reinfektion generalisiert, davon waren bei der Erstinfektion 3 generalisiert.

Vergleichen wir die Ergebnisse der Reinfektionsversuche bei den simultan geimpften Meerschweinchen mit den Ergebnissen bei den normal durchgeseuchten (Tab. 4), die zu 82 Proz. sich vom 8. Tage ab 3 Mon. lang total immun erwiesen, so ergibt sich, daß die gleichzeitige Einverleibung von Immunserum mit der Infektion die Immunkörperbildung zunächst einmal verzögert. Von den am 8. bzw. 9. Tage reinfizierten Tieren erwiesen sich 50 Proz. noch als hoch empfänglich. Dabei hatte die Stärke der Ersterkrankung bei den Simultangeimpften anscheinend gar keinen Einfluß auf die Immunkörperbildung, denn die 3 erstmalig generalisierten Tiere generalisierten nach 8 Tagen wieder, wobei die Aphthen an denselben Stellen auftraten wie bei der Ersterkrankung. Ferner erreicht die Immunität bei den Simultangeimpften nicht die Stärke wie bei den normal durchgeseuchten. Wir haben bei 63 Proz. nur humorale und nur in 11 Proz. totale Immunität, während bei den ohne Vorbehandlung durchgeseuchten Tieren sich 82 Proz. vom 8. Tage ab 3 Mon. lang total immun erwiesen.

Die Ursache für die schlechte Immunkörperbildung haben wir in der Eigenschaft des Rinderserums als artfremdes Serum gesucht. Dieser Schluß scheint uns um so mehr berechtigt, als wir feststellen konnten, daß von den 73 simultan geimpften und reinfizierten Meerschweinchen in der Hauptsache diejenigen generalisierten, die große Mengen (0,5 bis 4 ccm) Rinderserum erhalten hatten. Von den 19 bei der Reinfektion überhaupt generalisierten Tieren haben 18 die Menge von 0,5—4 ccm erhalten. Von den 30 Meerschweinchen, die bei der Erstimpfung Serumdosen unter 0,5 ccm erhielten, ist nur eines bei der Reinfektion generalisiert.

Den indirekten Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme haben wir noch durch folgenden Versuch erbracht. 8 Meerschweinchen er-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hielten je 5 ccm arteigenes Rekonvaleszentenserum subkutan eingespritzt unter gleichzeitiger Infektion an einer Planta. Die Tiere erkrankten nur lokal. Die Reinfektion dieser Tiere nach 23 Tagen ergab, daß 75 Proz. der Tiere durch die simultane Vorbehandlung total immun geworden waren, lediglich bei 25 Proz. kam es bei der Reinfektion zur Ausbildung von Impfaphthen.

Wegen der Eindeutigkeit der Befunde glauben wir diesen Ergebnissen über die Immunkörperbildung bei simultan mit artfremdem Serum behandelten Tieren eine allgemeine Bedeutung für die Serumtherapie überhaupt beimessen zu dürfen.

Ueber die Immunitätsverhältnisse bei spontan empfänglichen und simultan geimpften Tieren (Rindern) geben folgende Versuche Auskunft, die wir im Laufe der letzten Jahre vorzunehmen Gelegenheit hatten.

28 Rinder erhielten wechselnde Mengen Rinderimmunserum (50 bis 200 ccm) und wurden gleichzeitig mit 0,1 ccm Schweinelymphe intravenös infiziert. 8 Tiere hatten am 2. und 3. Tage p. i. Fieber von 39,0 bis 41,0°, ohne spezifische Veränderungen zu zeigen. Die übrigen 20 hatten geringe Blasenbildung an den Prädilektionsstellen. Sämtliche Tiere wurden innerhalb 8—25 Tagen mit 1,0 ccm Lymphe wiederum intravenös infiziert. Keines ist erkrankt.

5 weitere Rinder wurden nach Injektion von 50—200 ccm Rinderimmunserum mit 0,1—0,2 ccm Lymphe intrakutan am Flotzmaul infiziert. Sämtliche Tiere zeigten Aphthen an der Impfstelle und im Maule. Klauenblasen als Ausdruck stattgehabter Generalisation sind bei diesen Tieren nicht aufgetreten. Die kutane Reinfektion nach 10—13 Tagen mit demselben Lymphestamm verlief auch bei diesen Tieren erfolglos.

Es ergibt sich somit aus diesen Versuchen, daß die Simultanimpfung bei spontan empfänglichen Tieren stets eine absolute Immunität bewirkt, und zwar auch dann, wenn die Simultanimpfung bei intravenöser Applikation von virulentem Material nur zu einer Fieberreaktion ohne offensichtliche Erkrankung des Impftieres geführt hat[1]). Bedingung scheint aber -- das dürfen wir aus den vorhergegangenen Versuchen schließen — die Verwendung artgleichen Serums zu sein.

Zusammenfassung.

1) Bei dem spontan für Maul- und Klauenseuche empfänglichen Tiere (Schwein) ist bereits nach 2mal 24 Std. p. i. Gewebsimmunität nachzuweisen. Blutimmunität ist bei Rind und Schwein schon am 3. bzw. 4. Tage nach der Infektion experimentell nachzuweisen. Dagegen bei dem spontan nicht empfänglichen Meerschweinchen in der Regel erst nach 7—8 Tagen.

2) Die histogene Immunität erlischt zuerst, und zwar beim Meerschweinchen in der Regel vom 3. Monat ab, beim Rind nach den wenigen bisher vorliegenden Versuchen nicht viel später. Das Verschwinden der histogenen Immunität wird dadurch dokumentiert, daß bei diesen Tieren wieder lokale Aphthen an der Impfstelle zur Entwicklung gelangen, ohne daß Generalisation eintritt.

1) Die Annahme von Vallée und Carré (R. C. Acad. des Scienc. T. 172. 1921. p. 185), daß zu einer „wirksamen antiaphthösen Immunisierung der Ausbruch mindestens einer Aphthe notwendig sei", halten wir nach dem Ergebnis obiger und vieler anderer Versuche, über die noch zu berichten sein wird, nicht für richtig.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Blutimmunität verschwindet anscheinend bedeutend später, ausreichende Versuchsergebnisse liegen noch nicht vor.

3) Bei Simultanimpfung wird die Immunkörperbildung durch artfremdes Immunserum wesentlich behindert, und zwar durch große Serumdosen mehr als durch kleine. Bei der Verwendung artgleichen Serums zur Simultanimpfung sind die Immunitätseffekte beim Meerschweinchen dieselben wie bei normaler Durchseuchung. Dasselbe trifft beim spontan empfänglichen Rinde zu.

4) Bei 8 simultan geimpften und nur mit Fieber reagierenden Rindern konnten wir ebenfalls totale Immunität nachweisen.

5) Die virulizide Wirkung des Immunserums läßt sich nur unter Verwendung verhältnismäßig großer Dosen feststellen. Komplementablenkende Stoffe konnten nicht nachgewiesen werden.

Nachdruck verboten.

Ueber Spirochäten im Darme von Cyclostoma elegans Drap. und ihre Beziehungen zu Trichodinopsis paradoxa Clap.

[Aus dem Anatomischen Institute (Direktor: Prof. Dr. Sobotta) und dem Institut für Hygiene und Bakteriologie (stellvertr. Direktor: Privatdozent Dr. F. W. Bach) der Universität Bonn.]

Von Privatdozent Dr. **F. W. Bach** und Dr. **P. Quast.**

Im Verlaufe von Untersuchungen über die in der sogenannten Konkrementendrüse der Schnecke Cyclostoma elegans anzutreffenden Bakterien machten wir die Feststellung, daß dieses Tier in seinem Darmkanale Spirochäten beherbergt. Wie wir erst sehr viel später bei Durchsicht der Literatur sahen, ist diese Beobachtung schon 1909 von Fauré-Fremiet[1]) erhoben, anscheinend aber in der deutschen medizinisch-biologischen Literatur nicht weiter beachtet worden. Dem damaligen Sprachgebrauche entsprechend, wurden von dem französischen Untersucher die Spirochäten als Spirillen bezeichnet. 1911 sind Cépède und Willem[2]) in einer Arbeit über Trichodinopsis auf die Beobachtung Fauré-Fremiets zurückgekommen und bestätigen die Anwesenheit von Spirillen und ihre eigenartigen Beziehungen zu jenen Protozoen. Wenn also auch der Befund als solcher nicht neu ist, so halten wir uns doch für berechtigt, diese Tatsache wieder in Erinnerung zu bringen und auf die höchst eigenartigen biologischen Verhältnisse hinzuweisen; wir sind aber außerdem in der Lage, die nur kurzen Mitteilungen von Fauré-Fremiet wie von Cépède und Willem hin-

1) Fauré-Fremiet, Sur un cas de symbiose présenté par un Infusoire cilié. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 66. II. 1909. p. 113.)

2) Cepède et Willem, Observations sur Trichodinopsis paradoxa. (Bull. scient France et Belg. T. 45. III. 1911. p. 239.)

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sichtlich der Spirochäten zu vervollständigen und zu erweitern. Unsere — gänzlich unabhängig gewonnenen — Beobachtungen über die biologischen Eigentümlichkeiten der Spirochäten fanden wir in allen wesentlichen Punkten bestätigt.

Ueberraschte uns schon bei unseren ersten Dunkelfelduntersuchungen des Darminhaltes der Schnecke das Vorhandensein von Gebilden, die als Spirochäten anzusprechen waren, so waren wir noch mehr erstaunt, anscheinend die gleichen Gebilde an dem im Darmkanal von Cyclostoma elegans parasitierenden Ziliaten, Trichodinopsis paradoxa, zu finden, so daß wir beim ersten Anblicke im Zweifel waren, ob es sich nicht etwa um Zilien dieses Protozoons handele, die spirochätenähnliches Aussehen besitzen. Im Verlaufe weiterer Untersuchungen mußte aber dieser Zweifel schwinden, so daß wir zu dem Schlusse gelangten, daß Spirochäten sich dem Leibe dieses großen Protozoons anheften. Da wir zufällig bei den ersten Beobachtungen Exemplare von Trichidinopsis vor uns hatten, die gleichmäßig von Spirochäten besetzt waren, konnte man sehr wohl auf die Vermutung kommen, daß es sich bei diesen Gebilden um spirochätenähnliche Organellen des Tieres handele, zumal die sich frei findenden Spirochäten nicht mehr recht beweglich waren, da das Präparat schon einige Zeit zu Hellfelduntersuchungen gedient hatte, und daher abgerissene Geißeln vortäuschen konnten. Weitere Untersuchungen frisch angefertigter Präparate zeigten aber nicht jede Trichodinopsis mit jenem angeblichen Zilienbesatz und ließen vor allem auch die freien Spirochäten beobachten. Manche der Ziliaten wiesen ungleich verteilt an der Oberfläche Büschel von anhaftenden Spirochäten auf, oft fanden sie sich nur am Hinterende, gleichsam wie eine Wimperflamme, in anderen Fällen hafteten den Trichodinopsis nur ganz wenige Spirochäten an, und auch die Umgebungsflüssigkeit zeigte nur vereinzelte Exemplare. Hier aber hätten sie sich besonders reichlich finden müssen, wenn es sich um abgerissene Zilien gehandelt hätte. Durchaus für die Spirochätennatur sprach nun aber das Verhalten der freien Gebilde, sie ließen sich in mit Ringerscher oder physiol. Kochsalzlösung angefertigten Zupfpräparaten des Schneckendarmes im Dunkelfelde viele Stunden lang gut beobachten.

Vorauszuschicken ist, daß wir 2 verschiedene Spirochätenformen im Darminhalt angetroffen haben, eine große und eine kleine Form. Diese letztere wird von den französischen Untersuchern nicht erwähnt, nur die große Form, diejenige, die sich an Trichodinopsis anheftet, ist von ihnen beobachtet worden.

Bei der großen Spirochätenform handelt es sich um einen ziemlich langen Organismus, der eine außerordentlich lebhafte Beweglichkeit zeigt. Als feiner, gerade gestreckter Faden schwimmt die Spirochäte durch das Gesichtsfeld, nur selten kann man bei der großen Geschwindigkeit beobachten, daß es sich bei dieser Bewegung um Rotation eines äußerst fein gewundenen Fadens handeln muß. Plötzlich, als ob die innere Spannung dieses Fadens aufhört, zieht er sich unter Aufhören der Bewegung elastisch zusammen, bis auf etwa die Hälfte der ursprünglichen Länge, und erscheint für kurze Zeit in mehreren groben Windungen gewunden, um dann von neuem unter Streckung die ehemalige Bewegung aufzunehmen. Hin und wieder sieht man auch die Spirochäte elastisch auf- und zuschnellen oder in ganz unregelmäßigen Windungen wie einen zerknitterten Faden liegen mit Bewegungen, die einer Art Kriechen auf einer Unterlage entsprechen. Die Spirochäte besitzt in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hohem Grade eigenmächtige Biegsamkeit, besonders lange Formen bildeten gelegentlich Schleifen, indem sich ihre Enden berührten. Bei langen Exemplaren war auch, wenn nicht mehr so stark beweglich, eine etwas ausgezogene gerade Strecke zu bemerken, die vielleicht als Trennungsstelle bei der Teilung anzusprechen war, manchmal war auch ein zweifacher Bewegungsrhythmus an ein und demselben langen Faden wahrzunehmen. Die außerordentlich große Elastizität des vollbeweglichen Organismus verhinderte eine genaue Größenmessung, auch bei Abtötung mit Osmiumsäure schnurrte der Faden sofort gewunden zusammen. Exemplare, die viel von ihrer ursprünglichen Lebendigkeit im Verlaufe längerer Beobachtung eingebüßt hatten, zeigten sehr regelmäßige sekundäre Windungen, ihre Zahl wechselte im allgemeinen zwischen 4 bis 8 Windungen (besonders große Formen wiesen noch mehr auf). Die Länge solcher Exemplare ließ sich zu ungefähr 15—30 μ bestimmen. Derartig gewundene Spirochäten zeigten je nach der noch vorhandenen Lebensfähigkeit mehr oder weniger schnelles Rotieren am Orte oder mit geringer Ortsbewegung. Abgestorben nahmen die Organismen von selbst diese sehr gleichmäßig gewundene Form an.

Den Trichodinopsis hafteten die Spirochäten oft ohne wesentliche Eigenbewegung als gewundene Fäden in der eben beschriebenen Weise an, einzeln oder in Büscheln, oft bildeten sie aber einen in rasender, flimmernder Bewegung befindlichen Saum am Leibe dieses Tieres, aus dem nur hier und da einige unbewegliche gewundene Formen herausragten. Tötete man die Trichodinopsis z. B. durch Druck auf das Deckglas unter gleichzeitiger mikroskopischer Beobachtung, so sah man diesen flimmernden Saum sich in Spirochäten auflösen.

Neben dieser großen Form waren, wie erwähnt, auch noch kleine Spirochäten im Darminhalt der Schnecke festzustellen. Im ganz frischen Präparate war es anfangs schwer, die Spirochätennatur zu erkennen, da sich diese kleinen Organismen durch eine enorme Beweglichkeit auszeichneten. Blitzartig schießen sie als feine Striche umher, die Richtung unaufhörlich wechselnd. Am besten gelang es, sie als Spirochäten zu erkennen, wenn das Präparat einige Zeit alt war. Wie auch bei der großen Form schnurrt beim Wechseln der Richtung das kleine Fädchen elastisch zusammen und bildet, oft nur momentan sichtbar, 2—3 größere Windungen. In älteren Präparaten, bei geringerer Beweglichkeit, beobachteten wir eine flackernde Bewegung, ein schraubendes Drehen der 2—3 Schraubengänge. Diese kleine Form zeigt im großen und ganzen große Aehnlichkeit mit der langen Form, wir sind daher im Zweifel, ob man nur auf Grund der verschiedenen Größe eine besondere Art annehmen soll oder ob es sich nicht etwa um kleine Teilprodukte der großen Form handelt. In Fällen, in denen die großen Formen selten waren, waren die kleinen häufig und auch umgekehrt, oft überwog auch keine der beiden Formen. Wir haben sie bis jetzt stets zusammen angetroffen. Ob sich die kleine Form auch der Trichodinopsis anheftet, haben wir nicht feststellen können.

Die färberische Darstellung der Organismen im lufttrockenen oder mit Osmiumsäure fixierten Präparaten bereitet keine Schwierigkeit. Die Färbung gelingt am besten mit Giemsa-Lösung, bei Ueberfärbung ist vorsichtiges Differenzieren in 25-proz. Tanninlösung empfehlenswert.

Wie wir schon anfangs erwähnten, hat Fauré-Fremiet die langen Spirochäten als Spirillen beschrieben und ihr eigenartiges Verhalten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu Trichodinopsis beobachtet. In seiner kurzen Mitteilung legte er vor allem Gewicht auf die Feststellung, daß das, was von anderen Untersuchern als Zilien der Trichodinopsis (appareil ciliaire) angesehen worden war, selbständige Organismen seien, eine nähere Beschreibung der Spirochäte hat er wie auch später Cépède und Willem nicht gegeben. Er kommt zu diesem Schlusse, weil die Bewegung der sogenannten Zilien durchaus nicht der von Zilien entspräche, ferner fänden sie sich freibeweglich in der Umgebungsflüssigkeit; man könne ferner das Protozoon töten, wobei wohl die Bewegung der Mundgeißeln, nicht aber diejenige der Körper„geißeln" aufhöre. Er erwähnt auch den oft ungleichmäßigen Besatz in Bündeln am Leibe des Ziliaten[1]). Während sich ferner diese Organismen leicht nach Giemsa färben ließen, sei dies bei den echten Zilien des Protozoons nicht der Fall. Aehnlich äußern sich Cépède und Willem.

Als wichtigste Tatsache hebt Fauré-Fremiet hervor die konstante Anwesenheit der „spirille ectoparasite" und der Trichodinopsis in Cyclostoma elegans. Auch uns ist sehr bald aufgefallen, daß die Beziehungen zwischen beiden Organismen sehr eng sein müssen; denn auch wir sind, ehe uns die Veröffentlichung Fauré-Fremiets bekannt wurde, zu dem Schlusse gekommen, daß sich nur dann Spirochäten (beide Formen) im Schneckendarme finden, wenn auch Trichodinopsis anwesend ist. In all den Fällen, in denen wir den Ziliaten nicht beobachteten, konnten wir bisher auch keine Spirochäten beobachten. Anscheinend leben beide parasitischen Organismen in einer Art Symbiose.

Die Spirochäten wie auch Trichodinopsis überwintern mit den Schnecken. Wir fanden die Tiere des gleichen Fanges, der aus Heidelberg stammte, im Sommer wie auch nach dem Erwachen aus dem Winterschlafe infiziert.

Als Ergebnis verschiedener Kulturversuche möchten wir anführen, daß wir in Ringerscher Lösung mit Zusatz von 10 Proz. menschlichem Serum, in die kleine Stückchen des Schneckendarmes versenkt waren, noch nach 24 Tagen lebhaft bewegliche Spirochäten der großen Form angetroffen haben, zum Teil handelte es sich um sehr lange Exemplare. Eine auffallende Häufung der Organismen, so daß man von einer Vermehrung hätte sprechen können, konnten wir aber nicht feststellen. Trichodinopsis konnte dabei nicht überlebend gehalten werden, in der Kulturflüssigkeit hatte allmählich eine sehr starke Bakterienentwicklung stattgefunden.

---

1) Dies ist auch Issel bei seinen Untersuchungen über Trichodinopsis aufgefallen; er sieht die Spirochäten aber für Zilien an: „... queste ciglia possono in tutto o in parte far difetto". (Ann. Mus. Civ. di Storia Naturale di Genova. Ser. 3a. Vol. 2. (42). 1905. p. 334.)

Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Bacillus aromaticus aërogenes cavi.

[Aus dem staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien.]

Von Dr. **Yataro Sumiyoshi.**

Gelegentlich der Suche nach Bakteriophagen im Meerschweinchenkot habe ich einen Bazillus gefunden, der mir seiner Eigentümlichkeit halber einer kurzen Beschreibung wert erscheint.

Was mich auf diesen Bazillus aufmerksam werden ließ, war der intensive aromatische Geruch, der den ersten mit Stuhl beschickten Platten entströmte und nicht nur die ganze relativ große Brutkammer, sondern auch in Kürze den ganzen Laboratoriumsraum erfüllte. Dieser äußerst intensive, aromatische Geruch läßt sich am ehesten mit dem eines frischbeschickten Apfelkellers vergleichen; er ist äußerst angenehm und erfrischend. In künstlichen Kulturen hält er lange Zeit an, bis er schließlich nach und nach verloren geht. Ich konnte nicht feststellen, welche Substanz der Nährböden zur Geruchsbildung verwendet wird, denn er findet sich auf zuckerfreien genau so wie auf zuckerhaltigen Nährböden, in flüssigen genau so wie auf festen. Am intensivsten scheint der Geruch allerdings auf milchzuckerhaltigen Nährböden gebildet zu werden, ohne daß aber dabei Vergärung nachzuweisen wäre.

Mehrere der untersuchten Meerschweinchen haben diesen Bazillus im Darme beherbergt, und er konnte durch Wochen darin nachgewiesen werden. Als ich später nach Monaten bei anderen Tieren neuerlich nach diesem Bazillus suchte, waren meine Bemühungen umsonst; ich konnte ihn nicht wieder auffinden.

Dagegen erhält man sofort wieder intensiv riechende Kulturen, wenn man den Laboratoriumsstamm, der bereits nicht mehr oder nur noch wenig Riechstoff produziert, an Meerschweinchen verfüttert; er hält sich dann auch durch längere Zeit wieder im Darme der Tiere und ist bei der Kotuntersuchung nachzuweisen. Was den Bazillus selbst betrifft, so stellt er ein unbewegliches, schlankes, 3—4mal so langes als breites Stäbchen dar (0,5—1,5 μ). Er ist unbeweglich, bildet weder Sporen noch Kapseln und ist gramnegativ.

Auf Agarplatten wächst der Bazillus innerhalb 24 Std. zu großen, gelappten oder zart verästelten, fettglänzenden Kolonien aus, die ein kegelförmig erhabenes Zentrum besitzen, die Oberfläche der Kolonie ist geraut. Die Farbe ist im auffallenden Lichte weißlich, im durchfallenden blaugrün opalisierend.

Auf Schrägagar wächst ein fettglänzender, saftiger, farbloser Rasen. Bouillon wird gleichmäßig getrübt unter Spuren von Hautbildung und mit Bodensatz.

Weder im Trauben- noch im Milchzuckeragar findet eine Vergärung statt, das Wachstum ist streng aërob und ausschließlich auf die Oberfläche beschränkt, woselbst es zur Ausbildung eines gelbbraunen Pigmentes in der Kultur kommt.

Auf dem Barsiekowschen Nährboden mit Milch, Trauben-, Mannitzucker, Maltose und Saccharose tritt in den ersten Tagen Alkalibil-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dung mit Blaufärbung des Nährbodens ein. Darauf folgte eine eigenartige Peptonisierung mit völliger Entfärbung des Nährbodens; nur die oberflächlichste Schicht, die auch Häutchenbildung zeigt, bleibt blau. In der Kuppe der Eprouvette, und diese ausfüllend, liegt ein glasig gelblicher Bodensatz, wahrscheinlich die gefällte und peptonisierte Nutrose.

Molke wird schwach gebläut, und bleibt durch Wochen unverändert alkalisch. Milch beginnt sich nach 2—3 Tagen langsam zu peptonisieren und dieser Prozeß schreitet langsam weiter fort, wobei die überstehende, zunächst farblose, klare Flüssigkeit im Verlaufe von Tagen einen orangeartigen Farbenton annimmt.

Gelatine wird auf den Platten schalenförmig verflüssigt und im Gelatinestich findet zufolge des strengen Aërobiertums Wachstum nur an der Oberfläche, nicht aber auch im Stiche selbst statt. Die Oberfläche wird in ihrer ganzen Ausdehnung gleichmäßig verflüssigt und die Verflüssigungszone setzt sich jeweils scharf als solche ab.

Auf natürlich saurer Kartoffel und ebenso auf Glyzerinkartoffel wächst der Bazillus als speckig glänzender, graubrauner Belag, der sehr aromatisch riecht.

Da den Meerschweinchen gelegentlich möglicherweise Apfelschalen verfüttert worden waren, wurde auch, um diese Provenienz sicherzustellen, dieser Versuch gemacht, jedoch ohne Erfolg. Die Kultur auf Apfelmus oder Apfelmusnährböden ergab sogar Verlust des aromatischen Geruches. Es bleibt somit dunkel, weshalb durch eine Zeit hindurch zahlreiche Meerschweinchen diesen aromatischen Bazillus im Darme beherbergten. Auch ist es, wie erwähnt, nicht gelungen, festzustellen, aus welcher Substanz der Nährböden die aromatischen Riechstoffe gebildet werden.

Auf seine Pathogenität geprüft, erweist sich der Bazillus sowohl für Meerechweinchen als auch für Mäuse als völlig avirulent; selbst sehr große Dosen werden nur mit geringen Störungen, wie vorübergehende Appetitlosigkeit etc., bei intraperitonealer oder subkutaner Injektion vertragen.

Ich schlage für diesen Bazillus zufolge seiner Eigentümlichkeit und seines Fundortes den Namen B. aromaticus aërogenes cavi vor.

Am Schlusse nehme ich Gelegenheit, Herrn Privatdozenten Dr. Busson für seine Unterstützung bestens zu danken.

Nachdruck verboten.

Ueber Sauerstoffindikatoren in der Bakteriologie.

[Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie Berlin-Dahlem (Direktor Geh. Rat v. Wassermann).]

Von **Ernst Kadisch.**

Wir sind heute daran gewöhnt, die Einteilung der Bakterien in Aërobier und Anaërobier als ein heuristisch brauchbares Einteilungsprinzip anzuerkennen. Daß es nicht möglich ist, eine solche Einteilung streng durchzuführen, ist längst erkannt und durch Zusatz der Begriffe obligat und fakultativ sind Uebergangsstufen geschaffen worden. Praktisch jedoch wird jeder Keim, der bei Luftzutritt wächst, als Aërobier, alles, was dabei nicht wächst, als Anaërobier angesprochen — von den nicht kultivierbaren Keimen abgesehen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Für die pathogenen Mikroorganismen bildet wohl weder der ungehinderte Luftzutritt, noch die absolute Abwesenheit jeder Sauerstoffspur den Normalzustand. Wenn auch bei infektiösen Hauterkrankungen die Wachstumsbedingung am ehesten einer aëroben Oberflächenkultur gleichkommen, so kann man z. B. den Tbc.-Bazillus, der in allen Geweben zur Entwicklung kommen kann, in bezug auf sein pathogenes Wachstum im Körper kaum als Aërobier bezeichnen. Sein O-Optimum wird absolut nicht bei dem ungehinderten Luftzutritt liegen. Ferner ist bekannt, daß der als strengster Anaërobier angesprochene Tetanusbazillus auch bei Gegenwart von O-Spuren gedeiht, wenn eine Gewöhnung eingetreten. Beijerinck (1) fand für das Granulose-Bacterium butyricum das Optimum bei Spuren von Sauerstoff, jedoch nicht bei völligem Mangel desselben. Von sonstigen hierher gehörigen Beobachtungen sei die von Schreiber (2) erwähnt, welcher die Sporenbildung bei Milzbrandkulturen nur dann reichlich eintreten sah, wenn der Nährboden nicht hoch geschichtet ist. Der ungehinderte Luftzutritt, der die reichliche Sporenbildung bedingt, schafft also eine Wachstumsform, die der im tierischen Organismus nicht entspricht, in welchem bekanntlich Sporenbildung ausbleibt. Da in hoher Schicht die Sporenbildung auch in vitro ausbleibt, sind also die mehr anaëroben Kulturbedingungen den natürlichen entsprechender. Es wäre nun eine dankbare Aufgabe, worauf mich besonders Herr Geheimrat Ficker hinwies, eine Technik und Methodik zu finden, mit welcher das Sauerstoffoptimum eines Erregers wirklich festgestellt werden kann. Dies hätte für viele Fälle große Bedeutung, man denke beispielsweise daran, wie schnell Streptokoken ihre Virulenz verlieren, wenn sie auf Oberflächen gezüchtet werden, wie die Züchtung anaërob nach Ungermann (3) die Virulenz lange Zeit erhält. A priori möchte man die Forderung aufstellen, daß bezüglich des Sauerstoffangebots nur 2 Züchtungsarten statthaft sind, die bei einem Sauerstoffgebote, welches den natürlichen Verhältnissen im Körper entspricht und die bei einem optimalen O-Angebot für die spezielle Mikrobenart, um die es sich gerade handelt.

Von diesen ideellen Forderungen sind wir noch weit entfernt. Jede halbwegs brauchbare Methode, die O-Optima festzustellen, fehlt. Das heißt, eine Methodik ist denkbar: man läßt durch das Kulturgefäß eine konstante Mischung von Sauerstoff mit einem indifferenten Gase hindurchstreichen. Diese Versuchsanordnung ließ jedoch an Kompliziertheit und Verunreinigungsgefahr nichts zu wünschen übrig, so daß sie selbst für Forschungszwecke kaum in Frage kommt. Es würde sich also darum handeln, wenigstens Sauerstoffindikatoren zu kennen, welche die Aussicht geben, daß mit ihnen der O-Partialdruck gemessen werden kann. Die Lösung dieser Aufgabe ist bisher nicht gelungen, immerhin zeigte sich die Möglichkeit, die Zahl der Indikatoren zu vermehren. Da die Empfindlichkeit eines jeden verschieden, die Reaktionsgeschwindigkeit desgleichen, besteht die Möglichkeit, daß sich mit der Zeit eine Reihe von Indikatoren aufstellen läßt, mit welcher man das Ziel erreichen kann.

Die Vorarbeiten beständen darin, Richtlinien für die Auffindung neuer Indikatoren aufzustellen. Das Wesen das Sauerstoffindikators besteht darin: 1) daß er mit Sauerstoff eine chemische Verbindung eingehen kann; 2) diese Umsetzung bereits bei gewöhnlicher Temperatur vor sich geht; 3) das resultierende Umsetzungsprodukt eine deutliche Farbendifferenz gegen das Ausgangsprodukt darbietet.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stoffe, die die Bedingungen 1 und 2 erfüllen, also schon bei gewöhnlicher Temperatur O binden, sind mehr oder minder reduzierende Stoffe. Unter diesen suchten wir daher nach Indikatoren. Das bisher fast ausschließlich gebrauchte Methylenblau ist als solches nicht als Indikator anzusprechen, es erfüllt die Bedingung 1 nicht. Der Indikator ist die Leukobase, welche jedoch so labil ist (4), daß ihre direkte Verwendung unmöglich ist. Die Herstellung des Indikators geschieht daher kurz vor dem Gebrauch durch Reduktion des Farbstoffes. Benutzt man Pyrogallol als Indikator, so hat man auch mit Schwierigkeiten zu kämpfen, besonders, da seine Reaktionsgeschwindigkeit so groß ist, daß das Arbeiten an Bequemlichkeit dem Methylenblau unterlegen ist. Ich war daher auf der Suche nach reduzierenden Substanzen, welche, dem Agar zugesetzt, als Indikatoren dienen sollten, gleichzeitig durch ihr O-Bindungsvermögen das Eindringen des Sauerstoffes verlangsamen konnten und event. auch auf das Wachstum der Anaërobier begünstigend wirken, wie von Kitasato und Weyl für viele reduzierende Substanzen bereits nachgewiesen (5). Demgegenüber ist das Bindungsvermögen des Methylenblaus für Sauerstoff ein relativ geringes, hauptsächlich dadurch bedingt, daß man es seiner Färbkraft halber nur spurenweise dem Agar zusetzen kann. Da die Reaktion Methylenblau-Leukomethylenblau schon durch O-Freiheit der Umgebung reversibel ist, besteht die Vermutung zu Recht, daß es seinen O leichter wieder abgibt als ein nicht gleichartig reversibler Prozeß.

Da das Pyrogallol sich schon lange in der Anaërobentechnik einen Platz erobert hat, wurden andere Photoentwickler auf ihre wachstumbegünstigende Wirkung als auch auf ihre event. Indikatoreneigenschaften untersucht. Da Wassermann und Ficker (6) bereits das von Neuberg zur Untersuchung vorgeschlagene Phenanthren-Chinon als Aktivator für die Bildung von Fränkel-Toxinen erkannt hatten, ich diese aktivierende Eigenschaft auf die Hämolysinbildung des gleichen Erregers bestätigen konnte, wird es nahe liegen, sich auf Entwicklersubstanzen zu beschränken, welche durch Oxydation in Chinone übergehen. Sehr viele aromatische Substanzen mit Ausnahme des Phenylhydrazins und Phenylhydroxylamins gehen in chinonähnliche Körper über (7). Da

Tabelle

	I. 5 mg Substanz + 5 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung					II. I + 1 Tropfen $^1/_1$ n. NaOH			
	0′	5′	20′	40′	60′	0′	5′	10′	30′
Brenzkatechin	—	—	—	—	—	Sp. braun	—	—	—
Resorzin	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hydrochinon	—	—	—	—	—	gelb	+	++	++
Adurol	—	—	—	—	—	hellbraun	+	++	++
Eikonogen	—	—	—	—	—	gelb	++	+++	+++
Rodinal	—	—	—	—	—	hellviolett	++	++++	+++++
Metol	—	—	—	—	—	Sp. braun	—	+	+
Ortol	—	—	—	—	—	kanariengelb	+	++	++
Amidol	—	Spur braun	+	+++	+++++	braun	++	+++	+++
Glycin	schwer löslich					zitronengelb	+—	+	+

Die +-Zeichen bedeuten Zunahme der Verfärbung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

jedoch die Beobachtung der aktivatorischen Eigenschaften nur für das gewöhnliche Phenanthrenchinon vorliegt, dürften in wachstums- und toxinfördernder Richtung hauptsächlich jene Substanzen in Frage kommen, deren Substituenten in Parastellung am Benzolkern hängen, da andererseits der Einfluß weiterer Substituenten bezüglich aktivatorischer Eigenschaften nicht untersucht ist, dürfte sich vorerst empfehlen, die einfachen Disubstitutionsderivate vorzuziehen. Für die Verwendung der Parastellung bei Benzolderivaten spricht außer dem Uebergang in das gewöhnliche Chinon noch die bedeutend stärkere Reduktionskraft der Paraverbindung. Die Reduktionskraft des o-Aminophenols verhält sich zu der des p-Aminophenols wie 1,74 : 9,36; die des Brenzkatechins zum Hydrochinon wie 4,62 : 10,46 (gegenüber Silbernitrat; Andresen, 7 u. 8). Wie weiter unten noch genauer motiviert wird, spielt bezüglich der Indikatoreneigenschaft die NH_2-Gruppe eine Rolle. Mithin wäre das Paraminophenol eine Substanz, welche folgende 3 hier interessierenden Eigenschaften besitzt, resp. vermutlich besitzt:

1) Sie ist stark reduzierend, 2) sie ist ein O-Indikator, 3) sie geht in Chinon über (vermutlich aktivierend).

Hier sollen nun über einige Indikatoreneigenschaften der folgenden untersuchten Substanzen berichtet werden, während die Nachprüfung der theoretischen Erwägungen weiteren Versuchen überlassen wird, welche im Gange sind.

Es wurden untersucht:

1) o-Dioxybenzol Brenzkatechin
2) m-Dioxybenzol Resorcin
3) p-Dioxybenzol Hydrochinon
4) Bromhydrochinon Adurol (Agfa)
5) 1-Amino-2-Naphthol-6-Sulfosäure Eikonogen
6) p-Aminophenol Rodinal
7) Methyl-p-Aminophenol Metol
8) o-Methylaminophenolsulfosäure Orthol
9) 1-2-4-Diaminophenol Amidol
10) p-Oxyphenylglyzin Glcyin.

In Teil I der Tabelle wurde folgendermaßen verfahren: Je 5 mg jeder Substanz wurden in gleich weiten und langen Reagenzrohren verteilt, in jedes Rohr kamen 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung hinzu. Event. Farbänderungen sind eingetragen, nach jeder Ablesung wurde kräftig mit dem im Rohr restierenden Luftvolumen von 14 ccm durch-

I.

III.

10 mg Substanz + 10 ccm 2-proz. Agar

5′	20′	40′	100′	20h	48h	72h	120h	168h	212h
—	—	—	—	Sp	Sp	Sp	—7	—8	—8
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	Sp	Sp	Sp	Sp+
—	—	Sp	Sp+	—10	—12	—18	—22	—30	.
—	—	—	—	2—5	6—10	6—10	6—13	7—15	.
—	—	—	Sp	4—8	5—9	5—11	7—14	7—22	13—27
—	Sp	Sp+	Sp++	—10	—10	—17	—17	—20	.
1/2	2	2,5	5—6	8—18	8—20	12—23	15—27	17—35	30—48
—	—	—	—	—3	—5	3—9	6—14	7—15	.

Wo nur eine Zahl angegeben, bedeutet sie die Grenze der Verfärbung; eine Verfärbung bis zur Undurchsichtigkeit trat dort nicht ein.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

geschüttelt. Teil II der Tabelle entstand durch Zutun von einem Tropfen von $^1/_1$ normal. Natronlauge. Die +-Zeichen bedeuten die geschätzte Farbenzunahme gegenüber den sofort eingetretenen Verfärbungen. In gleichen Rohren wurde für Teil III der Tabelle zu je 10 mg Substanz 10 ccm 2-proz. Pepton-Witte-Bouillonagar zugetan, dem zur Vermeidung von Schimmelwachstum Karbol zugesetzt war. Zu verschiedenen Zeiten wurde die Ringbildung beobachtet; die ersten Zahlen geben die Breite der völlig verfärbten Zone an, die zweiten die Breite bis zum Aufhören jeder sichtbaren Spur.

Wie die Tabelle zeigt, ist Hydrochinon und Resorcin unter den gegebenen Versuchsbedingungen als Indikator nicht zu verwerten. Beim Brenzkatechin sind nur geringe Verfärbungen nachweisbar. Die Dioxybenzole sind also in Summa als Indikatoren, die dem Agar zugesetzt werden, nicht verwertbar. Sowie jedoch Aminogruppen hinzutreten, ändert sich das Bild. Das Adurol [1]), ein Bromhydrochinon, zeigt die Eigenschaften der Muttersubstanz kaum geändert und erweist sich unter den gegebenen Versuchsbedingungen als unbrauchbar. Winkler (9) hat Adurol bereits als O-Indikator benutzt, jedoch nur zur Bestimmung des Absorptionssauerstoffs im Wasser für Fischereizwecke. Es bleibt dahingestellt, ob Adurol vielleicht unter anderen Bedingungen, bei analog optimaler Alkalität usw., wie sie Riemsdijk für Methylenblau bestimmt hat, den Aminoderivaten gegenüber Vorteile besitzt. Unter den hier gestellten Bedingungen blieb die deutliche Verfärbung beschränkt auf: Metol (Methylaminophenol), Amidol (Diaminophenol), Rodinal (Paraaminophenol) und Glyoin (p-Oxyphenylglycin).

Hiernach ist also die Aminogruppe für die Indikatoreigenschaft von Vorteil. Wenn man diese Betrachtung sich gleichzeitig mit den Tatsachen vergegenwärtigt, daß das Pyrogallol als Indikator verwertbar ist, das Bromhydrochinon empfindlicher als das Hydrochinon und das Diaminophenol bedeutend an Empfindlichkeit voranmaschiert, so kommt man auf die Vermutung, daß folgende zwei Tendenzen im Molekül die Indikatoreneigenschaft mitbestimmen.

1) Je mehr Gruppen substituiert sind, um so empfindlicher wird der Indikator. — 2) Je mehr dieser Gruppen Aminogruppen sind, um so empfindlicher wird der Indikator.

Die Einführung des Methylrestes läßt einen deutlichen Einfluß nicht erkennen. Methyl-p-Aminophenol (Metol) bräunt den Agar bis in tiefere Schichten als das einfache Paraminophenol, jedoch ist der Farbenumschlag in schwach alkalischer Lösung bedeutend geringer. Das tiefere Vordringen der Bräunung kann auch an einer geringeren Reduktionskraft der Verbindung liegen. Die Verfärbung des Ortols kann auf den Hydrochinonbestandteil nicht zurückgeführt werden. Die andere Verbindung ist o-Methylaminophenolsulfosäure. Die Einführung der Methylgruppe zeigte auch bei der Paraverbindung keinen Vorteil. Da jedoch die Photochemiker zu diesen Substanzen anders eingestellt sind, als der nach O-Indikatoren Suchende, vermute ich, daß sie die Sulfosäure bildeten, um das schnelle Altern des Entwicklers zu vermeiden — also die schnelle Oxydation, welche wir erstreben — hintan zu halten. Vielleicht ergibt die Prüfung des Orthoaminophenols selbst eine große Empfindlichkeit der Substanz.

1) Es kommen 2 Adurole in den Handel: Von der Aktienges. für Anilinfabr. (Scheering) ein Bromhydrochinon, von der Fa. Hauff ein Chlorhydrochinon. Der Agfa sei an dieser Stelle für die freundliche Ueberlassung der Chemikalien gedankt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Um auf eine ev. Reversibilität der Reaktion durch O-Freiheit der Umgebung zu prüfen, wurde in einem Gefäß über reichlich Pyrogallol-Kalilauge sowohl ein mit dem Riemsdijkschen Indikator getränktes Hydrophilgasestück, als auch ein mit schwach alkalischer Amidollösung getränktes angebracht. Nachdem das Methylenblau bereits 20 Std. entfärbt war, hatte das Amidol seine durch 10 Min. Aufenthalt an der Luft erlangte schwarzbraune Farbe kaum merklich aufgehellt. Im größeren Umfange wurde nur das Paraminophenol benutzt. Wir setzen es jetzt regelmäßig in 0,1-proz. Menge dem Agar zu, welcher bei anaëroben Kulturen zur Ueberschichtung dienen soll. Ein Blick auf die Kulturröhrchen überzeugt dann sofort ob ein Nichtangehen derselben auf mangelhaften Luftabschluß zurückzuführen ist. Ueber Erfolge und Mißerfolge bei Zusatz zum Nährboden selbst soll später berichtet werden. Hier möge noch eine kleine Tabelle folgen, die über Versuche mit obigem Indikatorenagar zwecks Auffindung eines Maßstabes für den O-Partialdruck berichtet.

Tabelle II A.

Luftdruck in mm Hg	760			360			12		
nach Std.	24	48	96	24	48	96	24	48	96
Glycin	—	4—5	7—17	—	Sp	Sp—8	—	—	—
Amidol	9—12	8—20	15—27	8—11	9—14	12—24	1—3	2—15	3—30
Rodinal	5—10	6—10	11—24	Sp—10	Sp(5—11)	7—20	—	—	—
Metol	7—13	7—15	8—22	Sp—13	Sp(5—15)	7—18	—	—	—

Tabelle II B.

Amidolagar unter Burriverschluß mit steigenden Mengen Pyrog. KOH

Pyrog. 20 %	1′	5′	60′	24h	48h	72h
1 Tr.	1	1—2	3—6	6—14	10—20	15—25
3 „	Sp	1	3—5	4—8	6—15	7—18
6 „	—	Sp+	—4 Sp	—	—	—
20 „	—	Sp	—3 Sp	—	—	—

Bei der ersten Versuchsreihe wurde der O-Partialdruck durch Evakuierung gesenkt, bei der zweiten durch Zutun steigender Mengen Pyrogallolkalilauge im Burriverschluß. Soweit sich beurteilen läßt, bietet hiernach die Dicke der Bräunungsschicht event. einen Maßstab für den auf der Oberfläche lastenden O-Partialdruck. Danach besteht die begründete Aussicht, daß es mit obigen Indikatoren bei Zusatz zum Agar gelingen wird, eine viele Drucke umfassende Skala aufzustellen. Außer den Substanzen selbst kann man ihre Konzentration sowie die des Agars und ferner die Alkalität variieren; was wiederum weitere Möglichkeiten bietet.

Zusammenfassung.

Zusammenfassend wäre das Resultat der Ausführungen und Versuche

1) Methyl-p-Aminophenol, 1-2-4-Diaminophenol, p-Aminophenol, p-Oxyphenylglyzin sind, dem Agar zugesetzt, als Indikatoren geeignet.

2) Steigen der Substituentenanzahl, Aminogruppen und Steigen der Anzahl der letzteren gehen mit dem Auftreten von Sauerstoffindikatoreneigenschaften parallel.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) Alle geeigneten Substanzen tragen die Substituenten in Parastellung.

4) Die Gruppen am Kern sind von deutlicherem Einfluß als Substituenten in den Seitenketten.

5) Die hier besprochenen Indikatoren bieten gegenüber dem Methylenblau in ihrem Anwendungsbereich folgende Vorteile: a) sie sind selbst Indikatoren, daher ist irgendeine Manipulation nach Zusatz derselben zum Agar nicht erforderlich; b) ihr relatives O-Bindungsvermögen ist größer; sie verhindern infolgedessen auch das Eindringen von Sauerstoff und können den event. im Nährmedium vorhandenen binden, wobei ein Teil von ihnen keinen störenden Farbenumschlag zeigt.

Literatur.

1) Beijerinck, Arch. néerland. Sér. II. T. 1, 2. 1899. p. 397. — 2) Schreiber, O., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 20. S. 372. Abs. 5. — 3) Ungermann, Arb. a. d. Reichsges. A. Bd. 51. S. 180. — 4) Cohn, G., Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. 1900. H. 10. — 5) Kitasato-Weyl, Ztschr. f. Hyg. Bd. 8. S. 41. — 6) Wassermann u. Ficker, Klin. Wochenschr. Jhrg. 1. Nr. 23. 7) Andresen, Jahrb. f. Photogr. Bd. 13, 1899. S. 140. — 8) Ders., Ebenda. 1895. S. 20. — 9) Winkler, Originalien. Ztschr. f. angew. Chem. Bd. 26. S. 134/35, u. Bd. 24. S. 331. Refer.: Chem. Ztrbl. 1911. I. S. 1008 u. 1763, u. 1913. I. S. 1361. — 10) van Riemsdijk, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. H. 3.

Nachdruck verboten.

Die Keimzählung in Bakterienimpfstoffen auf mikroskopischem Wege.

[Aus dem alpenländischen Impfstoffwerk Graz-Triesterhof (wissenschaftlicher Konsulent Prof. Dr. J. Schnürer).]

Von Tierarzt Dr. **Hugo Sommer.**

Bei der Wirksamkeit der verschiedenen Bakterienimpfstoffe ist nicht nur die Art und Beschaffenheit der Bakterien von Wichtigkeit, sondern es spielt dabei auch naturgemäß die Anzahl der Keime für die Dosierung eine große Rolle. Für eine richtige Dosierung der Bakterienimpfstoffe ist daher die Bestimmung des Keimgehaltes unbedingt notwendig. Da es sich hier meist um abgetötete Bakterien handelt, ist ein biologisches Verfahren der Keimzählung durch die Kultur unmöglich, und es muß daher die Zählung auf mikroskopischem Wege erfolgen. Die makroskopische Bestimmung der Bakterienmenge, etwa durch Vergleich mit der Trübung einer geeichten Standardflüssigkeit, wurde wegen ihrer offensichtlichen Ungenauigkeit nicht in Betracht gezogen, ebensowenig wie die Keimzahlbestimmung durch Messen des Bodensatzes nach dem Zentrifugieren.

Methoden, die auf mikroskopischem Wege die Anzahl der Keime in einer Bakterienkultur bestimmen lassen, wurden unterschieden in direkte und indirekte Methoden.

I. Direkte Methoden.

1) Durch direkte Zählung der Bakterien in der Zählkammer, nach Art der Zählung der roten Blutkörperchen. Diese Methode ist zwar genau, aber sehr zeitraubend und für das Auge ermüdend; auch ist sie nur für große Bakterien praktisch durchführbar (5, 6, 1).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Methode nach Klein (2, 3). Klein färbte eine bestimmte Menge der Bakteriensuspension im flüssigen Zustande, entnimmt davon eine geeichte Oese voll und streicht sie auf ein Deckglas aus, dessen Oberflächeninhalt bekannt ist. Aus den bekannten Größen: Inhalt der Oese, Oberflächeninhalt des Deckglases, Größe und Anzahl der gezählten Gesichtsfelder und Summe der gezählten Bakterien läßt sich die Anzahl der Bakterien pro Kubikzentimeter errechnen. Diese Methode enthält eine Menge von Fehlerquellen, die sich praktisch nicht umgehen lassen (4).

II. Indirekte Methoden.

1) Methode nach Wright und deren Modifikationen. Wright nimmt ein Vergleichsobjekt mit bekanntem Zellgehalt (rote Blutkörperchen) und errechnet die Zahl der Bakterien aus dem Verhältnis der Summe der gezählten roten Blutkörperchen zu der der Bakterien. Als Standardflüssigkeit wird Menschenblut genommen, wobei der Gehalt an roten Blutkörperchen mit 5 Mill. pro Kubikzentimeter angenommen wird. Der Nachteil dieser Methode besteht darin, daß die Standardflüssigkeit umständlich herzustellen ist, und daß die Zahl der roten Blutkörperchen nicht konstant ist (1, 5).

2) Methode nach Fries (1). Diese ist aufgebaut auf die Wrightsche Methode; es wird aber hier als Vergleichsflüssigkeit nicht Blut genommen, sondern eine Aufschwemmung von Hefezellen in einer Karbolkochsalzlösung. Die Anzahl der Hefezellen pro Kubikzentimeter wird durch Zählung in einer Zählkammer ermittelt. Die Standardflüssigkeit ist also hier viel leichter und genauer herzustellen und ist gleich für eine große Reihe von Zählungen vorrätig. Das Zählpräparat wird folgendermaßen hergestellt. Die zu zählende Bakterienaufschwemmung oder -kultur wird gut durchgeschüttelt, davon wird je nach Konzentration eine bestimmte Menge, z. B. 0,2 ccm mittels Pipette entnommen und in ein Fläschchen gebracht. Hierzu kommt eine bestimmte Menge, z. B. 2,0 ccm der Testflüssigkeit. Diese Zählflüssigkeit kann dann noch, je nach der Konzentration, mit Wasser verdünnt werden. Von dieser Flüssigkeit werden mittels Pipette einige Tropfen auf einen Objektträger gebracht, die an der Luft eingetrocknet und dann fixiert werden. Nach der Fixation wird mit Fuchsinlösung wie gewöhnlich gefärbt. Unterm Mikroskop werden dann die Hefezellen und Bakterien Gesichtsfeld für Gesichtsfeld gezählt. Aus dem Verhältnis einerseits der entnommenen Flüssigkeitsmengen, andererseits der gezählten Bakterien und Hefezellen, läßt sich bei einem bekannten Zellgehalt der Testflüssigkeit die Zahl der Bakterien pro Kubikzentimeter errechnen. Diese Methode ist zwar einfach und leicht durchführbar, liefert aber in der geschilderten Ausführung, wie ich später nachweisen werde, bedeutende Fehlresultate.

Eigene Untersuchungen.

Methode.

Die hier ausgearbeitete Methode stellt eine Abänderung der Friesschen dar, wodurch die Fehlerquellen auf das geringste Maß herabgesetzt werden können.

Für die Herstellung des Zählpräparates sind zwei Flüssigkeiten vorzubereiten, die Testflüssigkeit und die dafür abgestimmte Farblösung.

1) Die Testflüssigkeit besteht aus einer Aufschwemmung von Hefezellen in Karbolkochsalzlösung und wird hergestellt, wie von Fries angegeben. Um die Testflüssigkeit sicher steril zu erhalten, erfolgt zur physiologischen Kochsalzlösung ein Zusatz von 5-proz. flüssiger konzentrierter Karbolsäure. 1 l dieser Karbolkochsalzlösung kommt in ein gut verschließbares Gefäß von $1^1/_2$ l Fassungsvermögen. Am besten eignet sich dazu ein dickwandiger Erlenmeyer-Kolben. Diese Lösung versetzt man mit einem haselnußgroßen Stück der gewöhnlichen käuflichen Bäckerhefe (Germ). Es ist darauf zu achten, daß die Hefe möglichst frisch und von einwandfreier Qualität ist, damit nicht die Verunreinigung mit Bakterien die Zählung stört. Die Flüssigkeit wird nun gut durchgeschüttelt, damit die Zellverbände zerreißen und die Zellen voneinander isoliert werden. Um dies zu erleichtern, beschickt man das Gefäß mit ca. 100 kleinen Glasperlen.

Die Zählung der Testflüssigkeit erfolgt in einer Zählkammer. Nach gutem Durchschütteln wird die Kammer beschickt und es erfolgt die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zählung und Berechnung genau so, wie es für die roten Blutkörperchen angegeben ist. Ich habe zur Zählung der Testflüssigkeit die Bürker-Türksche Kammer benutzt. Die Zählung erfolgte mit einem Reichertschen Mikroskop Objektiv D und Okular II. Es wurden bei einer Zählung 12 große Quadrate zu je 16 kleinen, also im ganzen 192 kleine Quadrate ausgezählt. Da die Hefezellen sehr groß sind, kann die Zählung sehr leicht und genau durchgeführt werden. Um mit möglichster Sicherheit eine genaue Testflüssigkeit zu erhalten, nimmt man das Mittel von 5 Zählungen.

Eine Konzentration der Testflüssigkeit von 20—30 Mill. Keimen pro Kubikzentimeter, wie Fries angibt, hat sich auch bei meinen Versuchen am besten bewährt. Bei der Herstellung der Testflüssigkeit mit den früher angegebenen Mengen läßt sich dieser Zellgehalt meist erreichen. Wenn das nicht der Fall ist, so kann man einerseits durch Zugabe von Karbolkochsalzlösung, andererseits durch Zugabe von Hefe leicht den gewünschten Zellgehalt erreichen.

2) Herstellung der Farblösung. Während nun Fries das Bakterienhefegemisch erst nach dem Eintrocknen und Fixieren auf dem Objektträger färbt, füge ich dem Gemisch aus Bakterien + Hefe die Farblösung schon vor dem Auftropfen auf dem Objektträger zu. Bei der Friesschen Methode wird durch das Färben und Abspülen eine unbestimmte Menge von Bakterien und Hefezellen abgeschwemmt. Dies wird dadurch vermieden, daß dem Gemisch die Farblösung schon im Reagenzglas zugesetzt wird und daher die Bakterien- und Hefezellen schon im gefärbten Zustande auf den Objektträger gebracht und eingetrocknet werden. Es entfällt somit das Fixieren und Färben des eingetrockneten Präparates vollkommen. Es darf demnach im Bakterien-Hefegemisch nur so viel Farbstoff vorhanden sein, daß sich die Zellen gut färben, aber kein größerer Ueberschuß von Farbstoff, damit nicht beim Eintrocknen Farbstoffniederschläge entstehen, die die Zählung sehr erschweren oder unmöglich machen. Es darf aber auch nicht zu wenig Farbstoff vorhanden zu sein, da sich sonst die Zellen zu schwach färben, und die Zählung ebenfalls unmöglich wird.

Die passende Konzentration der Farblösung wird mittels der Testflüssigkeit bestimmt und es wird dabei der Farbstoffverbrauch der beim Zählversuch zugefügten Bakterien nicht berücksichtigt. Eine Testflüssigkeit (1 l) mit einem Keimgehalt von 20—30 Mill. pro Kubikzentimeter benötigt beiläufig eine Konzentration der Farblösung von 1 ccm alk. konz. Fuchsinlösung auf 150—200 ccm Wasser. Die genaue Konzentration ist für jede frisch bereitete Testflüssigkeit zu bestimmen und bleibt für dieselbe immer gleich. Die genaue Bestimmung erfolgt folgendermaßen.

In eine Eprouvette werden 2 ccm der vorher gut geschüttelten Testflüssigkeit pipettiert. Diese wird mit 6 ccm einer Fuchsinlösung, die man sich vorläufig in einer Konzentration von 1 : 150—200 Wasser hergestellt hat, versetzt. Den Farbstoff läßt man einige Minuten einwirken und verdünnt dann das Ganze noch mit 6—8 ccm Wasser. Von der Flüssigkeit werden 5—6 Tropfen auf einen Objektträger gebracht und unter leichtem Erwärmen eingetrocknet. Nach Eindecken unter einem Deckglas mit Kanadabalsam wird das Präparat durchgemustert. Eine leichte Marmorierung des Grundes durch den eingetrockneten Farbstoff stellt der Zählung kein Hindernis entgegen, da sich die Zellen und später die Bakterien sehr scharf davon abheben. Sollte die Konzentration nicht

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die richtige sein, so kann man durch Zugabe von abgemessenen Mengen von Wasser oder konz. alter Fuchsinlösung leicht den richtigen Prozentsatz der Farblösung ermitteln. Es sind also 6 ccm der Farblösung auf 2 ccm der Testflüssigkeit abgestimmt.

Durchführung des Zählversuches.

Nachdem nun beide Flüssigkeiten, Test- und Farbflüssigkeit, hergestellt sind, schreitet man zum eigentlichen Zählversuch. Man stellt sich die gefärbte Zählflüssigkeit und aus ihr das Zählpräparat her.

Herstellung der gefärbten Zählflüssigkeit. Die zu zählende Bakterienaufschwemmung schüttelt man kräftig durch, damit die Zellverbände zerreißen und sich die Bakterien gleichmäßig in der ganzen Flüssigkeit verteilen. Je nach dem vermutlichen Keimgehalt entnimmt man eine bestimmte Menge mittels einer Pipette. Durch die Opaleszenz oder durch einen eventuell bekannten Prozentgehalt der Bakterienaufschwemmung hat man bei der ersten Entnahme beiläufige Richtlinien über den Keimgehalt. Bei einem vermutlichen Keimgehalt von 500 Mill. Keimen pro Kubikzentimeter entnimmt man 0,2 ccm von der Bakterienaufschwemmung. Diese Menge wird, möglichst ohne die Seitenwand zu berühren, in die untere Hälfte einer weiten Eprouvette gebracht. Hierzu werden nun 2 ccm der Testflüssigkeit gegeben. Diese Flüssigkeit wird gut durchgeschüttelt und stellt die konzentrierte Zählflüssigkeit dar. Nach dem Durchschütteln findet die Färbung statt, durch Zusatz von 6 ccm der Farblösung. Diese läßt man ca. 5 Min. einwirken. Um die Keime besser zu färben, erwärmt man die Flüssigkeit bis zum einmaligen Aufkochen. Um nun die spätere Zählung zu erleichtern, d. h. um die gewünschte Dichte der Zellen im Zählpräparat zu erhalten, erfolgt nach dem Kochen ein Zusatz von 6—8 ccm Wasser. Durch den Zusatz der Farblösung und des Wassers wird die konzentrierte Zählflüssigkeit wohl verdünnt, die Verhältniszahl: Bakterien zu Hefezellen wird dadurch aber nicht geändert.

Herstellung des Zählpräparates. Nach beendeter Färbung und Verdünnung wird die Zählflüssigkeit sorgfältig durchgeschüttelt. Mittels Pipette wird nun ein kleiner Teil entnommen und 6 Tropfen davon auf einen entfetteten Objektträger gebracht, der auf 2 horizontalen Glasstäben ruht. Die Flüssigkeit wird mit Hilfe der Pipette, die nun als Glasstab benutzt wird, rasch auf eine größere Fläche, beiläufig $^2/_3$ des Objektträgers verteilt. Durch eine unter dem Objektträger stehende kleine Flamme wird das Eintrocknen beschleunigt. Die Flüssigkeit trocknet zu einer gleichmäßigen, rötlich durchscheinenden Schicht ein. Für die Zählung selbst kommt nur die Mitte des Ausstriches in Betracht.

Durch den Ausstrich der Flüssigkeit auf eine größere Fläche wird eine ungleichmäßige Verteilung der Keime vermieden. Wenn man nämlich einige Tropfen ohne Ausstreichen eintrocknet, so findet man den Rand der Tropfen mit Bakterien und Hefezellen überfüllt, gegen die Mitte zu kommt eine zellarme Zone, und erst in der Mitte sind die Zellen gleichmäßig verteilt.

Da das Präparat nicht fixiert wird, muß die Zählfläche zur Zählung mit der Oelimmersion unter einem Deckglas mit Kanadabalsam eingeschlossen werden, wodurch gleichzeitig die Durchsichtigkeit des Präparates erhöht wird.

Das Präparat wird zuerst mit einer schwachen Vergrößerung, (Reichert-Objektiv Nr. 3) durchgemustert. Zeigt es sich, daß die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hefezellen ungleichmäßig verteilt sind, so ist das Präparat für die Zählung nicht geeignet. Ist die Verteilung jedoch gleichmäßig, so mustert man das Präparat mit der Oelimmersion durch. Sind die Hefezellen nicht zu dicht und ist das Verhältnis der Bakterien zu den Hefezellen ein entsprechendes, d. h. sind ca. 1–3mal mehr Bakterien als Hefezellen im Gesichtsfeld vorhanden, so kann die Zählung begonnen werden. Ist die Anzahl der Bakterien und Hefezellen in den Gesichtsfeldern zu groß, so verdünnt man dementsprechend das Bakterien-Hefegemisch mit Wasser. Ist im Verhältnis zu den Hefezellen die Anzahl der Bakterien zu groß oder zu klein, so stellt man sich eine neue gefärbte Zählflüssigkeit mit entsprechend geänderten Mengen der Bakterienkultur her.

Die Zählung erfolgt Gesichtsfeld für Gesichtsfeld und müssen sich dieselben gleichmäßig über die ganze Deckglasfläche verteilen. Zur Vermeidung der Selbstbeeinflussung erfolgt die Verschiebung des Präparates ohne Kontrolle durch das Mikroskop. Es sind mindestens 250 Hefezellen und die darauf entfallende Anzahl der Bakterien zu zählen. Es wird zwar das Resultat genauer, je mehr Hefezellen und entsprechend Bakterien gezählt werden, es ergeben sich aber schon bei diesen Zahlen hinreichend konstante Resultate.

Die Errechnung erfolgt ganz gleich wie Fries angegeben:

$$\frac{\text{Volumen der Testflüssigkeit}}{\text{Volumen der Bakterienkultur}} \times \frac{\text{Summe der gezählten Bakt.}}{\text{Summe der gezählten Hefezellen}} \times k = X.$$

k = die Konstante, ist der Gehalt an Hefezellen pro Kubikzentimeter der Testflüssigkeit.

Um ein Beispiel für die Berechnung zu zeigen, dienen folgende Annahmen: Testflüssigkeit = 26 Mill. Hefezellen pro Kubikzentimeter. Entnommen wurden: 0,2 ccm von der Bakterienkultur und 2,0 ccm von der Testflüssigkeit. Gezählt wurden auf 259 Hefezellen 560 Bakterien. Errechnung nach obiger Formel $\frac{2,0}{0,2} \times \frac{560}{259} \times 26\,\text{Mill.} = 10 \times 2,13 \times 26 =$ 553,8 Mill. Bakterien pro Kubikzentimer.

Bei Herstellung der Zählflüssigkeit und des Präparates ist auf folgendes noch besonders zu achten:

Alle Pipettierungen mit Hefezellen oder des Gemisches von Hefezellen und Bakterien müssen rasch erfolgen, da sonst die Hefezellen durch ihre eigene Schwere rasch zu Boden sinken und sich daher das Zahlenverhältnis ändert.

Für die Verdünnung und für die Farblösung wurde gewöhnliches Leitungswasser genommen. Physiol. Kochsalzlösung ist nicht geeignet, da beim Eintrocknen eine zu dicke Schicht zurückbleibt. In dieser Schicht befinden sich die Keime in verschiedenen Ebenen, wodurch das Zählen sehr erschwert wird. Der Keimgehalt des Grazer Leitungswassers spielt keine Rolle, da er so gering ist (1—3 Keime pro Kubikzentimeter), daß er vernachlässigt werden kann.

Es ist aber wichtig, die Standardhefeflüssigkeit auf ihren Gehalt an Bakterien zu prüfen, da die käufliche Hefe (Germ) immer mehr oder weniger mit Bakterien verunreinigt ist. Um das zu konstatieren, stellt man sich ein Zählpräparat ohne die Bakterienkultur her. Bei der Durchmusterung sollen nur ganz wenig Bakterien zu sehen sein. Wenn in den Gesichtsfeldern nur zufällig Bakterien angetroffen werden, so stört dies die Zählung nicht. Man präge sich aber die Gestalt und Form derselben ein, damit man sie bei der Zählung erkennen und berücksichtigen kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Objektträger werden mechanisch mit einem reinen Tuch trocken gereinigt und werden zum Entfetten 5—6mal durch die nicht leuchtende Flamme des Bunsenbrenners gezogen. Auf keinen Fall dürfen die Objektträger überhitzt werden, da sich sonst die Flüssigkeit beim Eintrocknen zusammenzieht und nicht gleichmäßig haften bleibt. Der Objektträger soll beim Eintrocknen der Flüssigkeit möglichst horizontal liegen und soll nicht erschüttert werden, da sich sonst die Zellen zusammenballen.

Die Zählung wird sehr erleichtert, wenn man sich aus der Mitte des Gesichtsfeldes ein Quadrat herausnimmt, so daß die Randteile des Gesichtsfeldes nicht in Betracht kommen. Zu diesem Zwecke gibt man in die Gesichtsfeld-Blendenebene des Okulars einen Ring aus steifem Papier, auf dem man 4 feine Seidenfäden oder Haare so aufgespannt hat, daß im Innern des Ringes ungefähr ein Quadrat entsteht.

Vergleich mit der ursprünglichen Friesschen Methode.

Bei dem nach Fries hergestellten Präparat wird erst nach Fixation in der Flamme gefärbt. Durch das Färben und Abspülen wird aber ein Teil der Bakterien und Hefezellen abgeschwemmt und dadurch die Verhältniszahl geändert. Schon bei einem gewöhnlichen Präparat wird nach Hehewert (2) ein großer Teil der Bakterien abgeschwemmt. Bei der Herstellung des Zählpräparates nach Fries spielt aber noch der hohe Karbolkochsalzgehalt eine große Rolle. Bei der Eintrocknung scheiden sich die Karbolsäure und das Kochsalz in Kristallen aus und bilden eine verhältnismäßig dicke Schicht, in welcher die Bakterien und Hefezellen ungleich verteilt sind. Ein großer Teil der Bakterien befindet sich an der Oberfläche, während die viel schwereren Hefezellen am Grunde der Schicht sich befinden. Bei der Färbung werden nun die Kristalle aufgelöst und es werden beim Abspülen die Bakterien in größerer Menge abgeschwemmt, als die tiefer liegenden Hefezellen. Daß dieser Einwand berechtigt ist, ergibt sich daraus, daß bei Zählungen nach der ursprünglichen Friesschen Methode bedeutend geringere Werte herauskommen als nach der abgeänderten. Zum Beweise dienen folgende Zählergebnisse.

Ich habe nach der Frieschen ursprünglichen Methode 5 Präparate hergestellt und dabei besonders darauf geachtet, daß alle Verrichtungen genau und exakt nach den Friesschen Angaben durchgeführt wurden. Es ergaben sich folgende Resultate:

1. Präp. 272, 2. Präp. 291, 3. Präp. 296, 4. Präp. 335, 5. Präp. 279 Mill.

Der Mittelwert aus diesen Zählungen stellt sich auf 295 Mill. Keime pro Kubikzentimeter. Es ergeben sich bei den einzelnen Zählungen ziemlich hohe Unterschiede. So beträgt der höchste Wert 335 Mill., der niederste 279 Mill. Der größte Unterschied zwischen zwei Zählungen beträgt somit 56 Mill., das sind 19 Proz. des Mittelwertes.

Bei 5 Präparaten, die ich von der gleichen Bakterienkultur nach der abgeänderten Methode hergestellt habe, ergeben sich folgende Werte:

1. Präp. 457, 2. Präp. 451, 3. Präp. 434, 4. Präp. 444, 5. Präp. 453 Mill.

Als Mittelwert dieser Zählungen ergibt sich 448 Mill. Keime pro Kubikzentimeter. Den höchsten Wert ergibt das erste Präparat mit 457 Mill., den niedersten das dritte mit 434 Mill. Der größte Unterschied zweier Zählungen beträgt somit 23 Mill., das sind 5,1 Proz. des Mittelwertes.

Vergleicht man diese beiden Zählergebnisse, so ergibt sich ein großer Unterschied in den absoluten Werten. Nach der abgeänderten

Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Methode ergibt sich ein Keimgehalt von 448 Mill., nach der Friesschen ursprünglichen Methode nur 295 Mill., also um 153 Mill. pro Kubikzentimeter weniger. Es gibt also die Friessche ursprüngliche Methode Resultate, die um 33 Proz. geringer sind als die nach der abgeänderten Methode erhaltenen.

Fehlergrenzen.

Da man bei einer indirekten Zählmethode nur einen kleinen Teil der Bakterien und Hefezellen zählt und erst durch Multiplikation mit sehr großen Zahlen das Resultat errechnet, so werden schon durch unbedeutende Zählfehler große Unterschiede herauskommen. Aber auch durch die Pipettierungen der verschiedenen Flüssigkeitsmengen wird das Ergebnis beeinflußt, da mit den gewöhnlichen Pipetten ein vollkommen genaues Abmessen der Mengen nicht möglich ist. Die Methode ist also nur dann brauchbar, wenn diese Fehlerquellen, die sich praktisch nicht umgehen lassen, das Resultat nicht zu sehr beeinflussen.

Zur Bestimmung der Werte dieser Fehler habe ich eine Reihe von Zählpräparaten angelegt. Es wurde für alle das gleiche Ausgangsmaterial, die gleiche Test- und Farbflüssigkeit verwendet und immer die gleichen Flüssigkeitsmengen entnommen.

Um die beim Zählen der verschiedenen Präparate gemachten Fehler ersichtlich zu machen, verfertigte ich von ein und derselben gefärbten Zählflüssigkeit 10 Präparate. Es ergaben sich bei der Zählung folgende Werte:

1. Präp. 486, 2. Präp. 460, 3. Präp. 459, 4. Präp. 487, 5. Präp. 456 Mill.
6. „ 470, 7. „ 460, 8. „ 477, 9. „ 472, 10. „ 480 „

Der Mittelwert aus diesen 10 Zählungen ergibt 471 Mill. Keime pro Kubikzentimeter. Der höchste Wert wurde beim 4. Präparat mit 487 Mill., der niederste beim 3. mit 459 Mill. gezählt. Die größte Differenz aus den Zählungen beträgt 28 Mill.; auf den Mittelwert berechnet, sind das 6 Proz. Es zeigt sich also, daß der Fehler, der beim Zählen der einzelnen Präparate entsteht, ± 3 Proz. des Mittelwertes beträgt.

Zur Konstatierung der Fehler, die beim Pipettieren der Flüssigkeitsmengen entstehen, habe ich von derselben Bakteriensuspension 10 verschiedene gefärbte Zählflüssigkeiten hergestelit und aus jeder von derselben ein Zählpräparat gemacht. Die Zählergebnisse dieser Präparate enthalten aber auch die Fehler, die durch das Zählen selbst gemacht werden. Diese beiden Fehler können sich entweder mehr oder weniger aufheben oder summieren. Es werden sich also bei den einzelnen Zählresultaten größere Unterschiede ergeben. Die einzelnen Ergebnise sind in Millionen pro Kubikzentimeter:

1. Präp. 457, 2. Präp. 451, 3. Präp. 434, 4. Präp. 444, 5. Präp. 453 Mill.
6. „ 429, 7. „ 457, 8. „ 476, 9. „ 427, 10. „ 470 „

Der Mittelwert aus diesen Zählungen ist 450 Mill. Keime pro Kubikzentimeter. Der Unterschied aus der größten gefundenen Zahl 476 und aus der niedersten 427 beträgt 49 Mill., das sind 10,1 Proz. des Mittelwertes. Es beträgt also der Fehler, der beim Zählen und Pipettieren entsteht, ± 5,05 Proz. des Mittelwertes.

Diese Fehler lassen sich praktisch nicht umgehen, sie lassen sich aber bedeutend herabmindern dadurch, daß man als Ergebnis das Mittel von mindest 3 Zählungen annimmt. Um mit möglichster Sicherheit ein genaues Resultat zu erhalten, sind also von jeder zu zählenden Bakterienkultur 3 Zählflüssigkeiten und aus jeder 1 Zählpräparat herzustellen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es werden aber für die Herstellung der Zählflüssigkeit nicht immer die gleichen Mengen von der zu zählenden Bakteriensuspension entnommen, sondern es richtet sich diese nach dem vermutlichen Keimgehalt. Es müssen also, auch wenn man verschiedene Mengen von der Bakteriensuspension für den Zählversuch entnimmt, die Ergebnisse ziemlich gleich bleiben. Um diese Wertunterschiede zeigen zu können, habe ich von ein und derselben Bakteriensuspension verschiedene Mengen für den Versuch entnommen und Zählpräparate hergestellt. Die Ergebnisse der Zählungen sind folgende Resultate:

a) 0,4 ccm Bakteriensuspension zu 2 ccm Testflüssigkeit
1. Präp. 477, 2. Präp. 450, 3. Präp. 444 Mill.
Das Mittel beträgt 457 Mill. Bakterien pro Kubikzentimeter.
b) 0,25 ccm Bakteriensuspension zu 2 ccm Testflüssigkeit
1. Präp. 470, 2. Präp. 450, 3. Präp. 446 Mill.
Das Mittel beträgt 449 Mill. Bakterien pro Kubikzentimeter.
c) 0,15 ccm Bakteriensuspension zu 2 ccm Testflüssigkeit.
Das Mittel beträgt 450 Mill. Bakterien pro Kubikzentimeter.
d) 0,05 ccm Bakteriensuspension zu 2 ccm Testflüssigkeit
1. Präp. 470, 2. Präp. 450, 3. Präp. 485 Mill.
Das Mittel beträgt 470 Mill. Bakterien pro Kubikzentimeter.

Aus diesen Zahlen ergibt sich, daß bei Entnahme von relativ größeren Mengen von der Bakteriensuspension die einzelnen Mittelwerte nur sehr wenig voneinander abweichen. Entnimmt man aber von der zu zählenden Bakteriensuspension zu geringe Mengen, so wird wegen der schwierigen genauen Durchführung der Pipettierung das Ergebnis beeinträchtigt.

Wenn die Methode der Keimzählung brauchbare Werte liefert, so darf auch bei einer Verdünnung des Ausgangsmateriales das endgültige Ergebnis nicht wesentlich geändert werden. Das heißt, die gefundene Keimzahl aus der verdünnten Bakteriensuspension muß, multipliziert mit der Verdünnung, die Keimzahl der ursprünglichen Bakteriensuspension ergeben.

Ich habe von einer Bakteriensuspension mit einem Keimgehalt von 453 Mill. pro Kubikzentimeter verschiedene Verdünnungen angelegt und von diesen den Keimgehalt bestimmt. Die Verdünnung erfolgte durch Zusatz von physiol. Kochsalzlösung.

a) Bei einer Verdünnung der Bakteriensuspension mit der gleichen Menge physiol. Kochsnlzlösung, also bei einer doppelten Verdünnung, erhielt ich folgende Resultate:

1. Präp. 207, 2. Präp. 235 Mill., 3. Präp. zerbrochen.

Der Mittelwert beträgt 221 Mill. Keime pro Kubikzentimeter. Dieser Betrag, multipliziert mit der Verdünnung, ergibt einen Keimgehalt von 442 Mill. Dieser Betrag weicht von der Keimzahl der unverdünnten Bakteriensuspension um —2,4 Proz. ab.

b) Bei einer 3-fachen Verdünnung der Bakteriensuspension ergeben sich folgende Werte:

1. Präp. 145, 2. Präp. 137, 3. Präp. 146 Mill.

Der Mittelwert aus diesen 3 Zählungen beträgt 142 Mill. pro Kubikzentimeter. Multipliziert mit der Verdünnung 3 ergibt sich ein Keimgehalt von 438 Mill. pro Kubikzentimeter. Das sind um 3,3 Proz. weniger als der ursprünglich errechnete Keimgehalt.

c) 4-fache Verdünnung. Es ergeben sich folgende Zahlen.

1. Präp. 117, 2. Präp. 118, 2. Präp. 102 Mill.

Mittelwert 112,2. Dieser multipliziert mit der Verdünnung 4 ergibt einen Keimgehalt von 449 Mill. pro Kubikzentimeter. Das sind um 0,9 Proz. weniger, als wie für die Ausgangssuspension errechnet wurde.

d) Bei 5-facher Verdünnung ergeben sich folgende Werte:

1. Präp. 87,2, 2. Präp. 95,1, 3. Präp. 92,8 Mill.

Diese Mittelzahl 91,7 multipliziert mit der Verdünnung 5, ergibt einen Keimgehalt von 458,5 Mill. pro Kubikzentimeter. Das ist um 1,2 Proz. mehr als der ursprünglich errechnete Keimgehalt.

Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Es weichen also die Mittelwerte aus den Verdünnungen nur wenig vom ursprünglich errechneten Wert ab. Es liefert daher die Methode auch bei Verdünnungen des Ausgangsmaterials brauchbare Werte. Die Fehler multiplizieren sich aber mit der Verdünnung, da der Keimgehalt für die verdünnte Bakteriensuspension bestimmt wird.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß die abgeänderte Methode der Keimzählung genaue Resultate liefert und brauchbar ist.

Im nachfolgenden führe ich einige Untersuchungen an, die die praktische Anwendung der Methode zeigen.

Anwendungen.

Die früher ausgeführte Methode wurde bei der Bestimmung des Keimgehaltes in den verschiedenen Operationsnummern des Bakterienimpfstoffes „T" angewendet. Zur Herstellung des Impfstoffes sei bemerkt, daß für alle Operationsnummern die Bakterien die gleichen Wachstumsverhältnisse hatten. Die Abschwemmung erfolgte immer mit der gleichen Flüssigkeitsmenge. Aber schon der Vergleich von Phiolen der verschiedenen Operationsnummern ergab eine ungleiche Opaleszenz. Durch diese optische Erscheinung wurde der Verdacht geweckt, daß trotz anscheinend gleicher Wachstumsverhältnisse der Bakterien, der Keimgehalt in den verschiedenen Operationsnummern nicht derselbe ist.

Ich habe von den einzelnen Operationsnummern Keimzählungen durchgeführt und dabei folgende Resultate erhalten. Es wurden von jeder Operationsnummer drei Zählungen vorgenommen und aus diesen folgende Mittelwerte errechnet.

Op.-Nr.	VII	116	Mill.	Bakterien	pro	Kubikzentimeter
„	VIII	321	„	„	„	„
„	IX	168	„	„	„	„
„	X	458	„	„	„	„
„	XI	414	„	„	„	„
„	XII	767	„	„	„	„
„	XIII	453	„	„	„	„

Es zeigt sich also, daß trotz anscheinend gleicher Wachstumsverhältnisse der Bakterien und der gleichen Herstellung der Operationsnummern der Keimgehalt in denselben doch stark verschieden ist. Die Op.-Nr. VII, VIII und IX zeigen einen bedeutend niedereren Keimgehalt als die später erzeugten.

Die Vermehrung von Rotlaufbakterien in Bouillon.

Die mikroskopische Methode der Keimzählung ist aber nicht nur für abgetötete, von Agaroberflächenkulturen abgeschwemmte Bakterien, sondern auch für flüssige Kulturen lebender Bakterien verwendbar. Ich habe mit dieser Methode versucht, die tägliche Vermehrung der Bakterien in einer Rotlaufbouillonkultur zu bestimmen.

Es wurden 3 Eprouvetten mit der gleichen Menge der gleichen Bouillon versetzt und jede mit einer Oese von einer Rotlaufstammkultur geimpft. Das Wachstum erfolgte in der Brutkammer bei einer Temperatur von 37° C. Nach 24-stünd. Wachstum wurden unter steriler Durchführung von jeder Eprouvette 1 ccm zur Untersuchung entnommen, die Kulturen aber weiter in der Brutkammer belassen. Die Entnahmen wiederholten sich nach je 24 Std. bis zum Ende des 5. Tages. Die Kontrolle auf die Reinheit der Kultur erfolgte bei der Zählung.

Bouillon, die mit einer Oese der Rotlaufstammkultur geimpft wurde,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ergab sofort nach der Beimpfung einen Keimgehalt von unter 1 Mill. Bakterien pro Kubikzentimeter

Nach 24-stünd. Wachstum ergaben sich folgende Werte:

1. Kultur	996	Mill.	Bakterien	pro	Kubikzentimeter
2. „	1166	„	„	„	„
3. „	959	„	„	„	„

Wie die Zahlen zeigen, erfolgte in den ersten 24 Std. ein stürmisches Wachstum der Bakterien. Auch färbten sich die Bakterien gut und gleichmäßig.

Bei Entnahme nach 48-stünd. Wachstum ergaben sich aus den einzelnen Kulturen folgende Mittelwerte:

1. Kultur	1527	Mill.	Bakterien	pro	Kubikzentimeter
2. „	1485	„	„	„	„
3. „	1450	„	„	„	„

Es erfolgte also auch in den zweiten 24 Std. noch eine Vermehrung. Der größte Teil der Bakterien färbte sich gut, es wurde aber schon eine Körnelung der Bakterien wahrgenommen.

Nach 3-tägigem Wachstum ergaben sich bei der Zählung folgende Mittelwerte:

1. Kultur	925,6	Mill.	Bakterien	pro	Kubikzentimeter
2. „	848,8	„	„	„	„
3. „	977,0	„	„	„	„

Bei Durchsicht des Präparates findet man, daß sehr viele Bakterien eine deutliche Körnelung zeigen und schwach gefärbt sind. Auch läßt sich ein starker Zerfall von Bakterien erkennen, die dadurch der Zählung entgehen.

Nach 4-täg. Wachstum ergeben sich bei der Zählung folgende Mittelwerte:

1. Kultur	910	Mill.	Bakterien	pro	Kubikzentimeter
2. „	737	„	„	„	„
3. „	876	„	„	„	„

Die Zählungen nach 5-täg. Wachstum zeigen folgende Mittelwerte:

1. Kultur	708	Mill.	Bakterien	pro	Kubikzentimeter
2. „	656	„	„	„	„
3. „	696	„	„	„	„

Es zeigt sich auch hier wie bei den vorigen Präparaten starke Körnelung und Zerfall der Bakterien.

Es wurden nur solche Keime gezählt, die entweder für sich oder im Verbande mit anderen als Bakterien erkennbar waren. Die Zerfallsprodukte wurden nicht mitgezählt. Da sich aber diese Grenze schwer bestimmen läßt, ist die Zählung der Präparate, die nach 3-, 4- und 5-täg. Wachstum verfertigt wurde, ungenau.

Der Versuch zeigt, daß das Wachstum der Bakterien in einer Rotlaufbouillonkultur nach 48 Std. den Höhepunkt erreicht hat, bzw. daß später der Zerfall der Bakterien das Anwachsen überwiegt.

Schlußsätze.

1) Die Friessche ursprüngliche Methode der Keimzählung hat technische Mängel, die das Ergebnis wesentlich beeinflussen; durch das Abspülen der Farbflüssigkeit nach dem Färben ergeben sich bis zu 33 Proz. zu geringe Werte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Die von mir ausgearbeitete Abänderung der Friesschen Methode (Färbung des Hefe-Bakteriengemisches in dem Proberöhrchen und Ausstrich auf dem Objektträger ohne Fixierung und ohne Abspülen der Farbe) vermeidet diesen Fehler.

3) Die Fehler bei der abgeänderten Methode sind bei Entnahme von Mengen von der Bakterienkultur, die noch genau zu pipettieren sind, ± 5 Proz. Werden zu geringe Mengen für den Zählversuch entnommen, wird das Ergebnis ungenau.

Literatur.

1) Fries, Eine einfache Methode zur genauen Bestimmung der Bakterienmenge in Bakteriensuspensionen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 90.) — 2) Hehewert, Die mikroskopische Zählungsmethode von Alex. Klein und einige Anwendungen derselben. (Arch. f. Hyg. Bd. 39. 1901. S. 321.) — 3) Klein, A., Eine neue mikroskopische Zählungsmethde der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 27. 1900. S. 834.) — 4) Friedberger u. Reiter, Die allgemeinen Methoden der Bakteriologie. (Kolle-Wassermann, Handb. 2. Aufl. Bd. 1. 1913. S. 483.) — 5) Soltmann, Die Prüfung der zur Schutzimpfung gegen Cholera hergestellten Impfstoffe. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 80. 1915. S. 323.) — 6) Winterberg, Zur Methodik der Bakterienzüchtung. (Ebenda. Bd. 29. 1898. S. 75.)

Nachdruck verboten.

Die Meinickesche Luestrübungsreaktion mit cholesterinfreien Balsamextrakten.

[Aus dem Bakteriologischen Institut zu Jena (Leiter: Prof. Dr. Abel).]

Von Dr. **H. Bering.**

In Nr. 2 der Dtsch. med. Wochenschr. 1923 veröffentlicht Meinicke eine Modifikation seiner M.T.R. Das Neue dieser Reaktion besteht darin, daß der zur Anwendung gelangende Balsamextrakt kein Cholesterin enthält.

Die Methode wurde von uns an etwa 400 Seris ausprobiert. Die Extrakte wurden uns in freundlicher Weise von Herrn Dr. Meinicke zur Verfügung gestellt. Da ich die Reaktion auf Grund der erzielten Erfolge für einen weiteren Fortschritt auf dem Wege der Luesdiagnose halte, seien die wesentlichsten Ergebnisse der Untersuchung kurz mitgeteilt:

Die Sera, die zur Untersuchung gelangten, wurden in jedem Falle mittels der WaR., der D.M. und in einem großen Teil auch mittels der Bruckschen Reaktion untersucht. Auf strengste Einhaltung der Vorschriften Meinickes (saubere Gefäße, Vorwärmen der Reagentien und der Extraktpipette, schnellstes Mischen des Extraktes usw.) als Vorbedingung für ein Gelingen der Reaktion ist größter Wert zu legen. Die Erfolge, die dann mit der Reaktion erzielt werden können, sind außerordentlich zufriedenstellend. Die Reaktion zeigt sehr scharf an, im Allgemeinen schärfer als WaR., D.M. und Bruck. Trotzdem können wir uns der Forderung Meinickes, daß die Reaktion bereits nach 1 Std. endgültig abgelesen werden soll — auf eine längere Beobachtungszeit verzichtet Meinicke prinzipiell (l. c.) — nicht anschließen. Es gibt immer noch Sera, sowohl WaR.-schwach positive, als auch völlig negative, meist von behandelten Luesfällen herstammend, die erst am

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nächsten Tage in der M.T.R. positiv reagieren. Auf das Ergebnis dieser 2. Ablesung (als Flockungsreaktion im Agglutinoskop oder mittels Lupe) kann man vorläufig noch nicht verzichten. Einige diesbezügliche Fälle möchte ich aus den Protokollen anführen.

Nr.	M.T.R.		WaR.	D.M.	Br.	Diagnose
	I[1])	II[2])				
256	—	++	++++	—	—	Lues behandelt
130	—	++	—	++	—	„ „
159	—	++	+	++	++	„ „
167	—	++	+	++	++	Ehefrau hat Lues II
152	—	++	—	—	—	P.A. Sp. p. ++

Die 1. Ablesung der M.T.R. erfolgte nach 1 Std., die 2. nach etwa 15—18 Std. Brutraumaufenthalt der Versuchsröhrchen. Besonders bemerkenswert scheint mir der letzte der genannten Fälle zu sein, in dem mittels der M.T.R. die charakteristische Reagibilität des Serums eines Primärsyphilitischen schon zu einer Zeit nachgewiesen werden konnte, in der die übrigen Reaktionen noch negativ ausfielen. Dieselbe Beobachtung konnte ich unter den von mir untersuchten Fällen insgesamt 3mal machen. Die Frühablesung der M.T.R. war in all diesen 3 Fällen negativ; erst die Spätablesung zeitigte ein positives Resultat, dessen Spezifität nicht geleugnet werden kann. Unspezifische Spätresultate scheinen bei der Verwendung cholesterinfreier Extrakte sehr selten vorzukommen; ich habe unter meinen Fällen kein einziges mit Sicherheit als unspezifisch anzusprechendes Resultat bemerkt, im Gegensatz zu der ursprünglichen M. T. R. mit cholesterinhaltigen Extrakten. (Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. H. 6.)

Die Anschauung Meinickes, daß sich die cholesterinfreien Extrakte von der zu Unspezifitäten neigenden Eigenschaft der cholesterinhaltigen Extrakte freigemacht haben, besteht in dieser Beziehung zu Recht. Einschränkend muß ich für meine Versuche bemerken, daß ich nur mit einem, und zwar einem dünnen Extrakt gearbeitet habe, während Meinicke 2 Extrakte, einen konzentrierten (lipoid- und balsamreichen) und einen dünnen (lipoid- und balsamarmen, relativ jedoch balsamreicheren, als der konzentrierte Extrakt) zum Arbeiten empfiehlt. Die konzentrierten Extrakte erwiesen sich uns als weniger brauchbar als die dünnen; da die dünnen Extrakte die leichter ausflockbaren sind, glaube ich kaum annehmen zu können, daß sich die obengenannten Fälle von Spätresultaten bei Verwendung eines konzentrierten Extraktes hätten vermeiden lassen, d. h. die Fälle ein positives Frühresultat ergeben hätten. Die ersten von uns mit der M. T. R. angestellten Versuche wurden mit 3 hinsichtlich ihres Lipoidbalsamgehaltes quantitativ und qualitativ verschiedenen Extrakten ausgeführt und fielen fast ausnahmslos zugunsten des dünnen Extraktes aus. Die dichten, konzentrierten Extrakte ließen überdies in einigen, allerdings wenigen, Fällen eine reversible Trübung erkennen, so daß wir von ihrer weiteren Verwendung Abstand nahmen. Es ist möglich, daß den neueren Extrakten diese Mängel nicht mehr anhaften.

Die Ablesung der Resultate bereitet keine Schwierigkeiten; die bis zur Undurchsichtigkeit gesteigerte Trübung der positiven Fälle ist von

1) 1. Ablesung. 2) 2. Ablesung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der fast klaren, völlig durchsichtigen Beschaffenheit der negativen Sera ohne weiteres zu unterscheiden; bei an sich trüben oder ähnlichen Seris empfiehlt sich die Zuhilfenahme der Doldschen Formolkontrolle.

Die Ausbeute an positiven Ergebnissen in sicheren — behandelten und unbehandelten — Luesfällen gestaltet sich bei Anwendung der verbesserten M.T.R. wesentlich höher als bei alleiniger Ausführung der WaR. oder einer Flockungsreaktion. Als die am relativ häufigsten negative Reaktion zeigte sich die von Bruck angegebene Zentrifugiermethode. Eine Ausnahme hiervon bilden folgende 3 Fälle:

„Keratitis parenchymatosa" WaR. und D.M. negativ, M.T.R. (1. und 2. Ablesung) und Bruck positiv (+++).

„Behandelte Lues II" D.M. und M.T.R. negativ, WaR. und Bruck positiv (++).

„Primäraffekt" WaR. und D.M. negativ, M.T.R. (1. und 2. Ablesung) und Bruck positiv (+++).

WaR. und D.M. stehen hinsichtlich ihrer positiven Resultate zwischen der M.T.R. und der Bruckschen Reaktion. Die D.M. hat ihre Zuverlässigkeit weiter bewahrt, an Feinheit wird sie jedoch von der M.T.R. übertroffen. Die weiteren Nachprüfungen der M.T.R. haben zu ergeben, ob man die D.M. zugunsten der Trübungsreaktion verlassen soll. Ich möchte sie vorläufig als brauchbare, einwandfreie Resultate liefernde Reaktion noch nicht missen, in Verbindung mit der verbesserten M.T.R. als der feineren, schärferen Methode leisten die beiden Reaktionen meines Erachtens einen völlig ausreichenden Ersatz der WaR.! Gewiß gibt es immer noch einen kleinen Prozentsatz von Seris, die nur in der WaR. reagieren, ebenso wie es Sera gibt, die nur in der Sachs-Georgischen oder einer ähnlichen Reaktion einen positiven Ausfall zeigen; ein großer Prozentsatz syphilitischer Sera reagiert jedoch nur in der M.T.R. Die Differenzen, die zwischen der WaR. und der verbesserten M.T.R. bestehen, beruhen fast ausschließlich auf dem häufigeren positiven Ergebnis der letzteren Reaktion. Das gegenteilige Verhalten konnte ich unter allen untersuchten Fällen nur 2mal feststellen: 1mal in dem oben schon genannten Falle, das 2. Mal stammte das Serum ebenfalls von einem behandelten Luespatienten, WaR., D.M. und Bruck waren schwach positiv, M.T.R. negativ. Diesen 2 Fällen stehen aber 32 Fälle gegenüber, in denen die M.T.R. positiv war bei negativer Wa.R.! In 13 von diesen letzten Fällen war die M.T.R. erst bei 2. Ablesung positiv. 29mal betraf das Vorkommnis einwandfreie Luesfälle; von 3 Seris konnte ich keine näheren Angaben über eine stattgehabte syphilitische Infektion erhalten, es handelte sich hierbei 2mal um unklare Nervenleiden, 1mal um eine verdächtige Kehlkopfaffektion. Die übrigen Reaktionen waren ebenfalls wie die WaR. negativ. In diesen 3 Fällen ist das Vorhandensein einer Lues nicht ausgeschlossen, so daß man ohne weitere Kenntnis der Patienten nicht mit Sicherheit von einem unspezifischen Reaktionsausfall sprechen kann.

Die Vorteile der verbesserten M.T.R. gegenüber den bisher geübten Methoden sind so ausgesprochen, daß ich mein Urteil über diese Reaktion zusammenfassend folgendermaßen abgeben möchte: Die Ausführung der M.T.R. neben der D.M. gestattet eine höhere Sicherheit des Ergebnisses, als es mit der WaR. allein oder in Verbindung dieser mit einer Flockungsreaktion zu erreichen ist. Die verbesserte M.T.R. stellt die schärfste zurzeit bekannte Luesreaktion dar.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber die Bereitungsweise der 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung zur Komplementbindung.

[Aus der Kaiser Wilhelms-Akademie für ärztlich-soziales Versorgungswesen (wissenschaftlicher Leiter: Ober-Regierungsmedizinalrat Prof. Dr. Konrich).]

Von Dr. **Willerding.**

In der amtlichen Anleitung des Reichsgesundheitsamtes für die Ausführung der Wa.R. heißt es über die Herstellung der Blutaufschwemmung folgendermaßen:

„Die als Bodensatz ausgeschleuderten Blutkörperchen sind mit steriler 0,85-proz. Kochsalzlösung derart aufzuschwemmen, daß die Blutkörperchenaufschwemmung stets von gleicher Dichte benutzt wird und der Mischung von 1 ccm Bodensatz und 19 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung entspricht."

Es wird hierin eine Konstanz verlangt, aber der Weg, wie sie erreicht wird, nicht angegeben. In folgendem soll nun gezeigt werden, daß in der Tat in der üblichen Weise eine Konstanz nicht erzielt wird, daß aber andererseits mit einem neuen Verfahren diese Konstanz erreichbar ist.

Mittels der Methode der Blutkörperchenzählung in der Thoma-Zeißschen Zählkammer wurde die Erythrozytendichte von der Hammelvene bis zum Reagenzglas verfolgt, indem nach jedesmaligem Waschen die Erythrozytenzahl im Kubikmillimeter festgestellt wurde. Die Dichte der roten Blutkörperchen der einzelnen Hammel und gesunden, artgleichen Tiere überhaupt ist konstant, d. h. bei jeder Entnahme die gleiche, selbstverständlich ohne Berücksichtigung der geringen individuellen Schwankungen. Es wurden 2 verschieden große Zentrifugen benutzt, von denen die große 3400 Umdrehungen in der Minute, mit einer Randgeschwindigkeit von 63 skm, und die kleine 2200 Umdrehungen mit einer Randgeschwindigkeit von 27 skm aufwies. In beiden Zentrifugen wurde Blut vom gleichen Tier und gleichen Punktat je 12 Min. lang 3mal gewaschen, das Waschwasser abpipettiert und aus dem Bodensatz nach jedem Waschen eine 5-proz. Aufschwemmung hergestellt. Es stellte sich dann heraus, daß die Dichte der Aufschwemmungen des Blutes aus der großen Zentrifuge bedeutend höher war als aus der kleinen, wie nachfolgende Zahlen beweisen.

Tabelle I (ein Versuch von achten).

Zentrifuge	Randgeschwindigkeit	Erythrozytendichte im Kubikmillimeter Aufschwemmung		
		nach 1. Waschen	nach 2. Waschen	nach 3. Waschen
Große	63 cmm	1 849 000	1 899 000	1 662 000
Kleine	27 „	1 350 000	1 403 000	1 478 000

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Dichte der Blutaufschwemmung ist also abhängig von der Zentrifugenwirkung, es ist keine Gleichheit der Dichte bei gleichem Blute, aber verschieden starker Zentrifugenkraft vorhanden. Eine ständige Zunahme der Konzentration der Blutsuspension nach jedem Waschen, die man vielleicht erwarten könnte, tritt nicht ein, vielmehr ist die Erythrozytenzahl nach den ersten Waschungen ganz unregelmäßig, erst vom 2. resp. (siehe Tab. I und II) vom 3. Waschen an findet eine zunehmende Konzentrierung statt bis zum 5. Waschen, um dann allmählich wieder abzunehmen.

Tabelle II (2 von 4 Versuchen).

	Zentrifuge	Erythrozytendichte im Kubikmillimeter Aufschwemmung nach Waschen						
		1.	2.	3.	5.	7.	10.	12.
1. Vers.	63 skm Randgeschwindigkeit	1 697 000	1 849 000	1 713 000	1 884 000	1 823 000	1 432 000*	1 416 000*
2. „		1 877 000	1 739 000	1 772 000	1 971 000	1 593 000*	1 529 000*	1 613 000*

* bedeutet Methämoglobinbildung.

Diese Aufschwemmungen wurden jedesmal unter größter Vorsicht hergestellt, um alle Fehlerquellen, die die Dichte beeinflussen könnten, zu vermeiden. Das Waschwasser wurde mittels einer Kapillare mit seitlicher Oeffnung möglichst mit der auf der Erythrozytenschicht lagernden feinen grauen Haut von Leukozyten abgesogen und dann mit einer oben geschlossen gehaltenen Pipette der rote Bodensatz abgehebert und zur Herstellung der Aufschwemmung nur der mittlere Teil der Blutsäule aus der Pipette, der also sicher nicht mit etwa noch zurückgebliebenem Waschwasser versetzt war, benutzt.

Nach 7—10maligem Waschen nahm das Blut eine braune Farbe an und zeigte spektroskopisch den für Methämoglobin typischen Streifen im Rot. In diesem so häufig gewaschenen Blute fand sich auch eine steigende Menge Blutschatten, was auf eine erheblichere, durch starke mechanische Einwirkung der Schleuderung bedingte Zerstörung roter Formelemente hinweist. Das Waschwasser, das beim 3. Waschen klar, wasserfarben gewesen war, nahm ständig eine gelbere Farbe an, dementsprechend zeigte auch die Benzidinblutprobe beim Waschwasser einen stärkeren Ausfall nach 12maligem Waschen als nach 3maligem. Die häufig gewaschenen Erythrozyten ließen im ungefärbten Bilde nichts Besonderes erkennen, sie waren kreisrund, vielleicht etwas schwächer gefärbt; im gefärbten Präparat (Färbung nach Pappenheim, kombinierte May-Grünwald- und Romanowsky-Färbung) waren sie etwas weniger stark und zeigten vor allem eine mehr violette Farbe, auch fehlte ihnen der um das eigentliche Blutkörperchen herumliegende mehr oder minder breite hellrote Hof, wahrscheinlich von ausgetretenem Hämoglobin, der bei den wenig gewaschenen konstant war. Die Erythrozyten waren also immer hämoglobinärmer geworden und zum Teil auch schon zugrunde gegangen. Dieselben Verhältnisse fanden sich auch bei dem in der kleineren Zentrifuge entsprechend behandelten Blute.

Sodann wurde die Dichte der Blutaufschwemmung bei gleichbleibender Fliehkraft, aber verschieden langer Einwirkungsdauer vergleichsweise geprüft. Es wurde Blut 12 Min. lang in der großen Zentrifuge bei Anwendung von 63 skm Randgeschwindigkeit und eine andere Menge Blut

Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

unter gleichen Bedingungen, aber 24 Min. lang geschleudert. Da zeigte sich, daß die Dichte bei dem länger gewaschenen Blute größer war als bei dem kürzer gewaschenen, wenigstens nach der 1. und 2. Waschung, dagegen war nach dem 3. Zentrifugieren die Konzentration in beiden verschieden lange gewaschenen Aufschwemmungen annähernd gleich, vielleicht etwas geringer in der länger gewaschenen, siehe Tab. III.

Tabelle III.

Randgeschwindigkeit	Dauer der Einwirkung	Erythrozytendichte im Kubikmillimeter Aufschwemmung		
		nach 1. Waschen	nach 2. Waschen	nach 3. Waschen
63 skm	12 Min.	1 528 000	1 620 000	1 758 000
	24 „	1 797 000	1 806 000	1 782 000
63 „	12 „	1 569 000	1 781 000	1 643 000
	24 „	1 839 000	1 828 000	1 592 000

Ein Vergleich der gefärbten Blutbilder zeigte bei der kürzere Zeit gewaschenen Aufschwemmung den üblichen roten Hof um das Blutkörperchen, während er bei der länger gewaschenen Emulsion nicht mehr vorhanden war. Offenbar waren auch hier durch die lange mechanische Einwirkung die roten Formelemente beschädigt worden und zum Teil zugrunde gegangen.

Bei weiterer Prüfung stellte sich heraus, daß Blut in der großen Zentrifuge bei einer Randgeschwindigkeit von 69 skm, je 5 Min. lang zentrifugiert, praktisch ebenso dicht war wie das aus der kleinen Zentrifuge mit einer Randgeschwindigkeit von 27 skm je 30 Min. gewaschene, siehe Tab. IV.

Tabelle IV (2 von 6 Versuchen).

Zentrifuge und Randgeschwindigkeit	Dauer der Einwirkung	Erythrozytendichte im Kubikmillimeter Aufschwemmung		
		nach 1. Waschen	nach 2. Waschen	nach 3. Waschen
große 69 skm	5 Min.	1 660 000	1 624 000	1 695 000
kleine 27 „	30 „	1 611 000	1 685 000	1 681 000
große 69 „	5 „	1 744 000	1 777 000	1 607 000
kleine 27 „	30 „	1 535 000	1 547 000	1 549 000

Die Größe des Erfolges ist in erster Linie abhängig von der Größe der Fliehkraft, die Dauer der Einwirkung ist weniger ausschlaggebend.

Die verschiedene Konzentration der Aufschwemmungen, die man bei verschiedener Zentrifugenwirkung erhielt, legte die Frage nahe, ob sie irgendeinen Einfluß auf die Höhe des Titers des hämolytischen Systems hat. Ueberlegungsgemäß muß ja die Menge des Ambozeptors und Komplements, die zur vollständigen Hämolyse erforderlich ist, von der Konzentration der Blutsuspension abhängen, es muß also ein wechselseitiges, festes Verhältnis zwischen den drei Stoffen bestehen. Zur Erforschung dieser Verhältnisse wurde folgende Versuchsreihe angesetzt: 20 ccm Hammelblut wurde in üblicher Weise gewaschen und nach dem 3. Waschen der Bodensatz in eine 20-proz. Aufschwemmung verwandelt, wobei der Bodensatz = 10 ccm, also der Hälfte des Gesamtblutes für rote Formelemente angenommen wurde. Von dieser 20-proz. Aufschwemmung wurden wiederum durch Verdünnen mit physiol. Kochsalz-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lösung eine 15-, 7,5-, 5-, 4-, 3-, 2-, 1-proz. Blutkörperchenaufschwemmung hergestellt: Nun wurde mit der üblichen 5-proz. Aufschwemmung der Titer des Ambozeptors wie des Komplements in üblicher Weise festgestellt (die Ablesung erfolgte, nachdem die Versuchsreihe 20 Min. im Wasserbade von 37° C gestanden hatte). Unter Zugrundelegung dieses so empirisch ermittelten Titers wurde für die übrigen Suspensionen der Titer des Ambozeptors und des Komplementes erst berechnet und sodann im Versuch festgestellt; die berechneten und im Versuch gefundenen Zahlen finden sich in Tab. V.

Tabelle V.

Aufschwemmungen, hergestellt in der großen Zentrifuge mit 69 skm Randgeschwindigkeit.

Proz. der Aufschwemmung	Erythrozytendichte in Kubikmillimeter	Berechneter Titer		Gefundener Titer	
		Ambozeptor	Komplement	Ambozeptor	Komplement
1 Proz.	179 000	1 : 11 000	2 Proz.	1 : 10 500	2 Proz.
2 „	368 000	1 : 5 500	4 „	1 : 5 500	4 „
3 „	537 000	1 : 3 600	6 „	1 : 3 500	6 „
4 „	756 000	1 : 2 750	8 „	1 : 2 800	8 „
5 „	936 000	als Maßstab d. Berechnung		1 : 2 200	10 „
7,5 „	1 411 000	1 : 1 650	15 Proz.	1 : 1 500	15 „
10 „	1 870 000	1 : 1 100	20 „	1 : 1 000	20 „
15 „	2 808 000	1 : 733	30 „	1 : 800	30 „
20 „	3 780 000	1 : 550	40 „	1 : 500	40 „

Die berechneten Zahlen stimmen praktisch mit den gefundenen überein, es besteht also ein wechselseitiges, festes Verhältnis zwischen Ambozeptor, Komplement und Konzentration der Hammelblutkörperchenaufschwemmung. Bemerkenswert ist noch für alle diese Versuche, daß das Ablesen des Titers bei den hochkonzentrierten Aufschwemmungen durch die intensive Färbung sehr erschwert ist, dagegen bei den schwachen und daher wenig oder nur eben gelb gefärbten 1- und 2-proz. Suspensionen sehr subjektiv und daher nicht ganz einwandfrei ist. Am leichtesten und deutlichsten sind die Titer bei den 4-proz. Aufschwemmungen abzulesen, die Blutkonzentration ist gerade derartig, daß sie die Hämolyse gut erkennen läßt. Beim Austitrieren des Komplements zeigte sich, daß schon 2 Proz. weniger Komplement, also statt 40 nur 38 Proz. eine ganz bedeutende Hemmung hervorrief. Nimmt man nun das Komplement bei allen Konzentrationen konstant, der 5-proz. Aufschwemmung entsprechend, 10 Proz. und setzt nur den Ambozeptor in steigenden und fallenden Dosen hinzu, so wird bei den stärkeren Konzentrationen mehr

Tabelle VI.

Aufschwemmung, hergestellt mit der großen Zentrifuge bei 69 skm mittlerer Randgeschwindigkeit.

Blutdichte	Erythrozytenzahl	Ambozeptortiter	Komplement
1 Proz.	364 000	1 : 9000	10 Proz.
2 „	327 000	1 : 7000	10 „
3 „	482 000	1 : 2800	10 „
4 „	645 000	1 : 2200	10 „
5 „	836 009	1 : 2000	10 „
7,5 „	1 221 000	1 : 1200	10 „
10 „	1 633 000	Hemmung	
15 „	2 442 000		
20 „	3 260 000		

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ambozeptor gebraucht als berechnet, bei den 10- und 20-proz. Aufschwemmungen tritt überhaupt keine Hämolyse ein.

Die höher konzentrierten Aufschwemmungen gaben leicht partielle Hemmung, es war keine glatte Versuchsreihe vorhanden, sondern es wechselte Hämolyse mit Hemmung, so daß zur einwandfreien Feststellung des Titers oft 3—4 Wiederholungen notwendig waren.

Vorstehende Versuche ergeben, daß bei Anstellung des hämolytischen Vorversuchs bei dichtem Blut aus der größeren Zentrifuge ein niedrigerer Titer gefunden wird. als bei dünnerem der kleinen Zentrifuge, wie auch die Versuche in Tab. VII beweisen. Zuweilen war sogar mit den dichten Aufschwemmungen überhaupt keine Hämolyse zu erzielen, besonders wenn der Titer bei der schwachen Aufschwemmung unter 1 : 2000 war.

Tabelle VII (2 von 10 gleichen Versuchen).

Zentrifuge	Randgeschwindigkeit	Dichte	Titer				
klein	27 skm	1 533 000	1 : 2000	Ambozeptor	10	Proz.	Komplement
groß	69 „	1 613 000	1 : 1500	„	10	„	„
K.W.A.*)		912 000	1 : 2200	„	10	„	„
klein	27 skm	1 549 000	1 : 1800	„	10	„	„
groß	69 „	1 607 000	1 : 1200	„	10	„	„
K.W.A.*)		714 000	1 : 2200	„	10	„	„

*) K.W.A. bedeutet die in der Kaiser Wilhelms-Akademie zur Komplementbindung benutzte Aufschwemmung, Erklärung weiter unten.

Der Titer des hämolytischen Systems ist anscheinend aber nicht einzig und allein von der Dichte der Aufschwemmung abhängig, es spielen noch andere, uns unbekannte Faktoren, vielleicht Oberflächenspannungsverhältnisse der Erythrozyten eine Rolle, wie folgendes Beispiel zeigt: Vom gleichen Hammel stammendes und am selben Tage verarbeitetes Blut weist nach Zentrifugieren in der großen Zentrifuge bei einer Dichte von 1 713 000 Erythrozyten im Kubikmillimeter den Titer 1 : 1200 Ambozeptor bei 1 : 10 Komplement auf und dann in der kleinen Zentrituge gewaschen bei einer praktisch vollkommen gleichen Dichte von 1 710 000 den höheren Titer von 1 : 1800 Ambozeptor bei 1 : 10 Komplement. Da die Laboratorien nicht alle gleiche Zentrifugen haben, werden sie auch gemäß dem oben Ausgeführten mit verschieden konzentrierten Aufschwemmungen arbeiten und dementsprechend höhere oder niedrigere Titer erhalten. Wenn man außer Acht läßt, daß der Ambozeptor im Laufe der Wochen gelegentlich mal nachläßt, was ja selten ist, und annimmt, daß das Komplement ziemlich konstant ist, so bleibt allein die 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung als eine vollkommen inkonstante Größe in dem konstanten Verhältnisse von Ambozeptor und Komplement. Es ist daher bei gleichem Ambozeptor lediglich in dem Dichtigkeitsgrade der Suspension die Ursache an dem verschiedenen Ausfall des Titers in den einzelnen Laboratorien zu suchen. Bei besonders dichten Aufschwemmungen bekommt man unter Umständen überhaupt keine Hämolyse, wie oben erwähnte Versuche gezeigt haben. Bei den dichten Aufschwemmungen ist auch das Ablesen der Titerdosis durch die konzentrierte Farbe sehr erschwert, man kann ohne weitere stärkere Verdünnung oft nicht unterscheiden, ob in der intensiv gefärbten Lösung noch suspendierte Teilchen enthalten sind. Alle diese Umstände wirken störend auf die Komplementbindung ein, sie werden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zwar bei genauer Anstellung des hämolytischen Vorversuches erkannt und beseitigt, doch ist es zweifellos zweckmäßig, sie durch Veränderung der Technik möglichst allgemein zu vermeiden.

Deswegen habe ich ein von Prof. Konrich angegebenes Verfahren nach den obigen Verfahren geprüft, das seit geraumer Zeit in dem hygienisch-bakteriologischen Laboratorium der Kaiser Wilhelms-Akademie in Anwendung ist.

Das Hammelblut hat nach Angabe der Veterinärlehrbücher im Durchschnitt 9 000 000 rote Blutkörperchen im Kubikmillimeter Blut, die Zahl schwankt um 1 Million nach oben und unten. Bei 6 untersuchten Hammeln wurden im Durchschnitt folgende Zahlen gefunden:

Hammel	I	= 9 200 000	Erythrozyten
„	II	= 10 400 000	„
„	III	= 10 250 000	„
„	IV	= 10 750 000	„
„	V	= 10 000 600	„
„	VI	= 10 300 000	„

Nach diesen Zählungen kann man mit einer praktisch konstanten Zahl von 10 000 000 für den Hammel rechnen.

Dem Laboratorium standen zur Komplementbindungsreaktion 3 Hammel zur Verfügung, die abwechselnd — bei 2mal wöchentlich angestellter Wassermannschen Reaktion, also etwa alle 10 Tage — punktiert wurden.

Bei allen diesen Hammeln waren die Erythrozytenzahlen im defibrinierten Blute an den einzelnen Tagen der Blutentnahme praktisch immer gleich, es traten keine größeren Schwankungen ein, die geringen, sich im allgemeinen um einer Viertelmillion bewegenden, sind durch die Unzulänglichkeit der Blutzählungstechnik bedingt.

Von dem defibrinierten Hammelblute wurde nun eine vorher mit der Pipette abgemessene Menge, sagen wir 20 ccm, in üblicher Weise gewaschen und nach dem 3. Waschen daraus in folgender Weise, wie oben schon kurz erwähnt, die 5-proz. Aufschwemmung hergestellt. Unter der Annahme, daß die Hälfte des Blutes aus Formelementen, zur anderen aus Serum besteht, wurden von den 20 ccm Blut 10 ccm als roter Bodensatz gerechnet und dieser nun durch Hinzufügen physiologischer Kochsalzlösung auf 200 ccm in eine 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung verwandelt und zur Komplementbindungsreaktion benutzt. Dabei wurde der Bodensatz aller Zentrifugenröhrchen zunächst mit einer kleineren Menge Kochsalzlösung derart herausgespült, daß die Blutkochsalzaufschwemmung aus dem ersten Röhrchen in das zweite gegossen und dessen Bodensatz ebenfalls darin aufgenommen wurde, dann diese Aufschwemmung in das dritte Röhrchen gegossen wurde usf. Aus dem letzten Gläschen kam die Blutaufschwemmung in einen Meßzylinder von mindestens 200 ccm. Hierauf wurden mit einer zweiten Menge Kochsalzlösung in gleicher Weise die Reste der Erythrozyten aus den Zentrifugengläsern entnommen und ebenfalls in den Meßzylinder gegossen; nötigenfalls wurde das Verfahren zum dritten Male wiederholt. Zum Schluß wurde die Flüssigkeit in dem Meßzylinder mit NaCl-Lösung auf 200 aufgefüllt. Das Aufwirbeln der Erythrozyten in der Kochsalzlösung geschah derart, daß mit der hineingegossenen ersten Menge von Kochsalzlösung eine Pipette von 5 oder 10 ccm vollgesogen wurde, worauf der Pipetteninhalt kräftig wieder in den Bodensatz hineingepreßt wurde. Die Pipette darf aber nicht ganz leer geblasen werden, da sonst durch die auftretenden Luftblasen Blut verspritzt wird. Der unter Druck austretende Pipettenstrahl wirbelt die dem Glase teilweise ziemlich fest

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

anhaftenden Erythrozyten schonend und schnell auf, zumal dann, wenn die Pipettenspitze fast auf den Boden des Zentrifugenglases aufstößt. Bei gutem, auf diese Weise bewirkten Aufwirbeln der roten Blutzellen lassen sie sich mit 2maligem Herausspülen so vollkommen aus dem Zentrifugengläschen entfernen, daß diese ihren früheren Inhalt überhaupt nicht mehr erkennen lassen. Die ganze Handhabung beansprucht keinen nennenswerten Zeitaufwand. Die jedesmal zum Vergleich vorgenommenen Zählungen dieser Suspension ergaben eine auch natürlich bei allen Hammeln fast konstante Zahl von im Durchschnitt 830000 Erythrozytendichte. Bei gleichbleibendem Ambozeptor fand sich dementsprechend auch ein stets gleicher hämolytischer Titer, abgesehen von geringen Schwankungen, die auf kleinen Differenzen in dem jedesmal benutzten Komplement beruhen; siehe Zusammenstellung IX.

Tabelle IX.

Bei gleichem Ambozeptor (auf 1:2000 eingestellt).

Hammel	Erythrozytendichte	Titer				
I	735 000	1:2000	Ambozeptor	10	Proz.	Komplement
I	746 000	1:2000	„	10	„	„
II	1 331 000	1:2000	„	8	„	„
II	940 000	1:2200	„	10	„	„
II	827 000	1:2000	„	10	„	„
II	880 000	1:2000	„	10	„	„
III	816 000	1:2000	„	10	„	„
III	755 000	1:2000	„	10	„	„
III	805 000	1:2000	„	10	„	„
III	912 000	1:2200	„	10	„	„
III	714 000	1:2200	„	10	„	„
III	942 000	1:1800	„	10	„	„

In Tab. VII sind diese Zahlen als K. W. A.-Aufschwemmung zum Teil schon einmal enthalten und zeigen dort den großen Unterschied gegenüber anderen Zentrifugaten. Der Ambozeptor war auf 1 : 2000 eingestellt, diese Titerdosis wurde meist nur mit der K. W. A.-Aufschwemmung erreicht, während die anderen benutzten Aufschwemmungen einen niedrigeren Titer aufwiesen.

Die Vorzüge des eben beschriebenen K. W. A.-Verfahrens liegen in folgendem:

1) Das Verfahren gestattet äußerste Sparsamkeit an Hammelblut, was besonders in den Fällen angebracht ist, in denen nur ein Hammel zur Verfügung steht. Man kann vor der Blutentnahme die benötigte Menge genau berechnen und gewinnt nur diese durch Punktion. Der rote Bodensatz wird mit physiolog. Kochsalzlösung restlos aus den Zentrifugenröhrchen herausgespült, so daß überhaupt kein Blut verloren geht.

2) Die Methode ist bequemer und leichter, da nur einmal eine Blutmenge abgemessen zu werden braucht, und zwar von dem defibrinierten dünnen Blute, was natürlich besser geht, als bei dem dicken Bodensatz. Gleichzeitig ist das Ablesen einer etwas weniger konzentrierten Aufschwemmung, eben dieser so hergestellten, leichter und objektiver, weil in den dünneren Farben noch umherschwimmende ungelöste Teilchen gut zu erkennen sind, was in dichten Farben nicht möglich ist.

3) Das K. W. A.-Verfahren ist genauer als das sonst geübte. Da die Hammel, wie oben gezeigt, eine praktisch konstante Erythrozytenzahl haben und man daher von einer konstanten, vorher abgemessenen Blutmenge ausgeht, hat die Fliehkraft der ungleiche Arbeit leistenden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zentrifugen keinen Einfluß mehr auf die Dichte der Blutaufschwemmung. Es wird also mit der Konrichschen Methode auch in den einzelnen Laboratorien Konstanz in der Konzentration der Blutaufschwemmung und damit ein gleichmäßiger Titer des gleichen Ambozeptors erreicht. Die Forderung der amtlichen Anweisung, konstante Blutemulsionen zu benutzen, wird also mit diesem Verfahren ermöglicht.

Vergleicht man die Dichte der K.W.A.-Aufschwemmung mit der berechneten Dichte, wie sie eigentlich bei der Annahme von 50 Proz. Formelementen und 50 Proz. Serum sein müßte, so stellt sich heraus, daß sie etwas zu gering ist, mit der sogenannten 5-proz. üblichen Aufschwemmung verglichen. Bei geringer Zentrifugenleistung (denn nur wenige Laboratorien verfügen über große Zentrifugen) sind aber derartige eigentlich zu schwache Aufschwemmungen zweifellos benutzt worden.

Zur Erzielung wissenschaftlich einwandfreier, gleichmäßiger Resultate bei Anstellung der Komplementbindungsreaktion ist die Normalisierung der Blutaufschwemmung nach dem obigen Verfahren zweckmäßig.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Ausflockungsreaktion nach Bruck zur Luesdiagnose.

[Aus dem Bakteriologischen Institut zu Jena (Leiter: Prof. Dr. Abel).]

Von **Alice Kressler,** Technischen Assistentin des Instituts.

In der München. med. Wochenschr. 1922. Nr. 15. vom 14. April und in der Dtsch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 25. vom 23. Juni wurde von Bruck eine neue serologische Methode (Flockungsreaktion) zur Schnelldiagnose der Lues veröffentlicht. Bei dieser Methode wird das Serum des Patienten, aktiv oder inaktiviert, mit einer 10-proz. NaCl-Lösung und einem nach bestimmter Vorschrift hergestellten Extrakt versetzt und ergibt nach 20 Min. langem Zentrifugieren bei positivem Ausfall eine Ausflockung, die mit bloßem Auge abgelesen werden kann.

Um Vergleiche zwischen dieser Methode, der Wassermann-Reaktion und der Reaktion nach Meinicke D.M. anzustellen, wurden bei uns durch 2 Mon. alle zur Wassermann-Untersuchung eingesandten Blutproben (rund 2000) nach den 3 genannten Methoden verarbeitet, und zwar so, daß zuerst der Bruck abgelesen wurde, sodann der Wassermann und Meinicke von einer anderen Person, der die Bruck-Ergebnisse nicht bekannt waren.

Die für die Reaktion nötigen Extrakte wurden im Institut nach der von Bruck angegebenen Methode (1 Teil Herzmuskel mit der 5-fachen Menge 96-proz. Alkohol übergießen, 14 Tage stehen lassen, dann filtrieren) hergestellt. Es wurde im Verlaufe der Untersuchung mit 3 verschiedenen Extrakten, 2 Ochsenherz- und 1 Menschenherzextrakt, alle 3 ohne Zusatz von Cholesterin, gearbeitet. Die beiden Ochsenherzextrakte wurden mit einem Zusatz von Cholesterin auch zur Wassermann-Reaktion verwendet. Der eine der Extrakte, der anfangs sehr gute Resultate gab, versagte plötzlich für Bruck, d. h. er flockte ohne Patientenserum mit einer 10-proz. Kochsalzlösung aus, mußte also bei den weiteren Versuchen fortgelassen werden. Die deutlichsten Ergebnisse gab der Menschenherzextrakt, dessen nach Brucks Vorschrift

Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

verdünnte Suspension sich auch unbegrenzt gehalten hat. Eine Extraktverdünnung wurde, um sie auf ihre Empfindlichkeit gegen physikalische Einflüsse zu prüfen, bei den verschiedensten Temperaturen, zwischen 8° und 20° C und unter Lichtwirkung gehalten. Sie gab nach 8 Wochen keine unspezifischen Resultate.

Der Hauptversuch wurde so ausgeführt: Die Extraktverdünnung (1 : 1) wurde unter sehr langsamem Zugeben von physiol. Kochsalzlösung hergestellt und vor jedesmaligem Gebrauch auf Eigenflockung geprüft. Neben den Serumkontrollen (positives und negatives Serum) wurde eine Extraktkontrolle (0,2 ccm Extraktverdünnung + 0,8 ccm 10-proz. NaCl + 0,2 ccm phys. NaCl) mitangesetzt.

Die zur Untersuchung verwendeten Röhrchen waren 10 cm lang und hatten einen Durchmesser von 0,9—1 cm; 9 von ihnen paßten in je einen der größten Behälter unserer elektrischen Zentrifuge (Tourenzahl ca. 3000 Min.). Auf diese Weise konnten in 20 Min. 36 Seren geschleudert werden. Die Kosten für elektrischen Strom sind also, für das einzelne Serum berechnet, nicht hoch.

Die Stärke der Reaktion wurde, wie beim Wassermann üblich, mit ++++, +++, ++, ±, —, je nach der stärkeren oder schwächeren oder fehlenden Ausflockung bezeichnet. Um auch ganz geringe Ausflockungen erkennen zu können, wurde die Extraktverdünnung probeweise mit einigen Tropfen einer dünnen wässerigen Methylenblaulösung versetzt; es schien uns, als ob dabei die Ausflockungen deutlicher erkennbar waren. Die starken Ausflockungen sind mit bloßem Auge deutlich sichtbar, die schwächeren wurden mit der Lupe betrachtet, ein Agglutinoskop wurde nicht gebraucht.

Die Versuche wurden bei den ersten 200 Seren in 2 Doppelreihen angesetzt:

1. Reihe. a) 0,2 inaktiviertes Serum (½ Std. bei 56°) + 0,8 ccm einer 10-proz. NaCl-Lösung + 0,2 ccm Extraktverdünnung, sogleich 20 Min. schleudern, durchschütteln, dann ablesen,

b) dieselbe Mischung 24 Std. bei Zimmertemperatur stehen lassen, durchschütteln, dann ablesen.

2. Reihe. a) 0,2 ccm nicht inaktiviertes Serum + 0,8 ccm einer 10-proz. NaCl-Lösung + 0,2 ccm Extraktverdünnung 20 Min. schleudern, durchschütteln, dann ablesen,

b) dieselbe Mischung 24 Std. bei Zimmertemp. stehen lassen, durchschütteln, ablesen.

Da die Versuche mit aktivem Serum, zentrifugiert und nicht zentrifugiert, fast durchweg einen schwächeren Ausschlag gaben, als die mit dem inaktivierten Serum (++ und ± der inaktiven war nicht mehr nachweisbar), sind sie bei den weiteren Untersuchungen fortgelassen worden.

Das inaktivierte Serum gibt ohne Zentrifugieren einen etwas schwächeren Ausschlag, als wenn die Mischung zentrifugiert ist. Diese Methode würde ja aber auch nur dann in Frage kommen, wenn keine Zentrifuge vorhanden ist. Man müßte eben dann die Flockungsstärke anders beurteilen.

Es ist nicht unwichtig, zu erwähnen, daß die zu den Versuchen verwendete 10-proz. Kochsalzlösung besser wirkte, wenn sie einige Tage alt war.

Zur Feststellung, ob die Brucksche Reaktion nicht ähnlich derjenigen von Sachs-Georgi bei Tuberkulose eine unspezifische Frühausflockung zeigt, wurden 19 Seren von sicher Tuberkulösen verarbeitet. Die Blutproben wurden freundlichst durch Herrn Dr. Müller — Heilanstalten Hohenlychen, zur Verfügung gestellt. Bei diesen waren in 12 Fällen Tuberkelbazillen nachgewiesen, in 7 Fällen war die Diagnose klinisch und röntgenologisch gestellt worden. Alle diese Seren gaben bei der Bruckschen Reaktion keinerlei Ausflockung

In nachstehenden Tabellen sind die Ergebnisse von 2000 Unter-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

suchungen an inaktiviertem Serum mit sofortigem Zentrifugieren im Vergleich zu den Untersuchungsresultaten bei der Wassermann- und Meinickeschen Reaktion angegeben.

Tabelle I.

I	II	III
Bruck = Wa	Bruck > Wa	Bruck < Wa
84 Proz.	4,6 Proz.	4,5 Proz.

IV	V
Bruck —, Wa +	Bruck +, Wa —
1,6 Proz.	5,3 Proz.

Da bei II u. III weder die eine noch die andere Reaktion ganz versagt hat, sondern nur stärker oder schwächer anzeigte, ergibt sich eine Uebereinstimmung zwischen Wassermann und Bruck in 93,1 Proz.

Unter IV (Bruck —, Wa +) 1,6 Proz. = 32 Fälle, in denen der Bruck nicht ausflockte, handelte es sich 1mal um eine Erkrankung mit Icterus, 3mal um Papeln (Näheres war nicht zu erfahren), 3mal um Primäraffekt und 1mal um einen Liquor; bei letztgenanntem Falle ergab das Blut des Patienten mit allen 3 Reaktionen ein negatives Ergebnis; der Liquor des Falles war im Wassermann ++, im Meinicke wie im Bruck —. Die übrigen 24 Fälle waren wegen Lues behandelt.

Bei den unter V (Bruck +, Wa —) 5,3 Proz. = 106 Fällen lag 8mal latente Lues, 5mal Ausschlag (wir haben nicht erfahren können, ob er syphilitischer Natur war) und 93mal floride Lues vor.

Tabelle II.

I	II	III
Bruck = Meinicke	Bruck > Meinicke	Bruck < Meinicke
80,3 Proz.	5,3 Proz.	4,4 Proz.

IV	V
Bruck —, Meinicke +	Bruck +, Meinicke —
2,4 Proz.	8,9 Proz.

Es ergibt sich, I, II, III, zusammengerechnet, eine Uebereinstimmung von 90 Proz. zwischen Meinicke und Bruck.

Bei IV und V handelte es sich, mit Ausnahme eines Falles (Ausschlag ohne nähere Angabe), um behandelte Fälle.

Tabelle III.

I	II	III
Meinicke = Wa	Meinicke > Wa	Meinicke < Wa
81,4 Proz.	3,6 Proz.	6 Proz.

IV	V
Meinicke —, Wa +	Meinicke +, Wa —
6,9 Proz.	2,1 Proz.

Zwischen Meinicke und Wassermann, I, II, III, zusammengerechnet, eine Uebereinstimmung von 91 Proz.

IV und V waren behandelte Fälle.

Zusammenfassung.

1) Die Reaktion nach Bruck ist einfach und mit geringen Hilfsmitteln auszuführen. — 2) Unspezifische Ausfälle wurden bei ihr nicht bemerkt. — 3) Die Uebereinstimmung mit der Wassermann-Reaktion ist zum mindesten ebenso groß, wie die der Flockungsreaktionen nach Meinicke und Sachs-Georgi. — Wir halten daher die neue Reaktion nach Bruck für ebenso brauchbar, wie die beiden Flockungsreaktionen nach Meinicke und Sachs-Georgi, denen sie durch ihre Einfachheit überlegen ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber neue Peptonpräparate für die bakteriologische Praxis.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes (Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Haendel. Laboratoriumsvorsteher: Oberreg.-Rat Prof. Dr. L. Lange).]

Von Dr. med. **G. Heuer.**

Die in der „Dtsch. med. Wochenschr. 1922. S. 1076 erschienene Veröffentlichung von Vieth und Kathe „Ueber ein neues Peptonpräparat für die bakteriologische Praxis" war die Veranlassung, eine Prüfung des Peptons „Knoll" im Vergleich mit dem Pepton „Witte" anzustellen. Später habe ich in gleicher Weise noch ein neueres Peptonpräparat „Wülfing" untersucht.

Vorweg sei gleich bemerkt, daß bei diesen Untersuchungen lediglich die Eignung des Peptons „Knoll" und „Wülfing" zur Verwendung in der bakteriologischen Praxis interessierte. Auf die chemische Zusammensetzung konnte nicht weiter eingegangen werden.

Die gewöhnliche und wohl meist geübte Art der Eignungsprüfung verschiedener Peptone für die Nährbodenbereitung beschränkt sich darauf, die eine Peptonsorte durch die andere zu ersetzen. Aber schon die Beobachtung, daß Fleischwasser allein, ohne Peptonzusatz, unter Umständen makroskopisch gleich gute Wachstumsergebnisse wie Fleischwasser mit Peptonzusatz liefert, — ja bei einem ad hoc angestellten Versuche ergaben sogar die Zählplatten eine zahlenmäßige Ueberlegenheit des einfachen Fleischwassers über Bouillon (Fleischwasser mit 1-proz. Peptonzusatz) — zeigt deutlich, daß diese Prüfungsart wenig geeignet ist, den Gebrauchswert verschiedener Peptonsorten zu bestimmen. Frei von der sehr variablen und unbestimmbaren Wertigkeit des Fleischwassers gilt es, allein das Pepton als Nährmittel für Bakterien zur Geltung kommen zu lassen, und durch fallenden Peptonzusatz zu den Nährmedien die Grenzen der Nährwirkung zu ermitteln. Auf Grund einer solchen Grenzwertbestimmung glaube ich dann, die Eignung eines Peptons für die bakteriologische Praxis feststellen zu können.

Mit dem Pepton „Witte", „Knoll" und „Wülfing" stellte ich demnach genau nach der amtlichen Vorschrift für die Choleradiagnose von der 10-proz. Lösung ausgehend eine 1-proz. Peptonlösung her. Von dieser 1-proz Lösung aus wurden Verdünnungen in drei verschiedenen Medien angesetzt, nämlich 1) in destill. Wasser, 2) in einer Lösung von 1 g Kochsalz, 0,01 g Kaliumnitrat und 0,2 g kristallisiertem, kohlensaurem Natrium auf 100 g destill. Wasser, entsprechend also dem Salzgehalt des amtlichen Peptonwassers, und 3) in mit destill. Wasser 1 : 100 verdünntem Fleischwasser. Die Verdünnungen enthielten an Pepton von 0,1, 0,01 usw. bis 0,000001 fallende Mengen. Zur Kontrolle dienten mir die Verdünnungsflüssigkeiten ohne Peptonzusatz. In diesen Nährmedien, die in flüssigem und festem Zustand (mit $1^1/_2$-proz. Agarzusatz) verwendet wurden, wurden Typhusbazillen, Coli-Bazillen, Choleravibrionen, Staphylokokken und Pseudomilzbrandbazillen überimpft. Um Fehlerquellen durch eine ungleichmäßige Beimpfung mit der Oese möglichst auszuschalten, verrieb ich in je 5 ccm physiol. Kochsalzlösung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

je 1 Oese der 24 Std. alten Kulturen, zentrifugierte kurze Zeit, um größere Bazillenhäufchen auszuschleudern, und beimpfte die Nährböden mit je 1 Tropfen der Bazillenemulsion aus der gleichen Pipette.

A. Die Wachstumsergebnisse in den flüssigen Nährmedien waren folgende:

1) Bei Verwendung des destillierten Wassers als Verdünnungsflüssigkeit im Vergleich „Witte-Knoll" war das Wachstum von Typhusbazillen und Staphylokokken im „Knoll-Peptonwasser" dem im „Witte-Peptonwasser" überlegen. Das Wachstum von Coli-Bazillen, Choleravibrionen und Pseudomilzbrandbazillen war in beiden Peptonwasserröhrchen gleich. In den „Witte-Röhrchen" wuchsen nämlich Typhusbazillen, Choleravibrionen und Staphylokokken nur im unverdünnten, 1-proz. Peptonwasser, Coli- und Pseudomilzbrandbazillen im 1:10 verdünnten. In den „Knoll-röhrchen" wuchsen dagegen Typhus-, Coli-, Pseudomilzbrandbazillen und Staphylokokken in dem 1:10 verdünnten, und Choleravibrionen nur im unverdünnten Peptonwasser.

Bei dem später vorgenommenen Vergleich „Witte-Wülfing" zeigte sich das „Witte-Pepton" überlegen. Typhus-, Coli- und Pseudomilzbrandbazillen wuchsen in den 1:10 verdünnten „Witte-Röhrchen", Choleravibrionen und Staphylokokken nur in den unverdünnten; in den „Wülfing-Röhrchen" wuchsen alle 5 Stämme nur im unverdünnten Peptonwasser.

2) Wurde als Verdünnungsflüssigkeit die dem Salzgehalt des amtlichen Peptonwassers entsprechende Salzlösung benutzt, so war im „Witte-Knoll"-Vergleich nur bei Choleravibrionen ein zugunsten des „Knoll-Peptons" sprechendes Wachstum zu finden. Choleravibrionen wuchsen nämlich noch in den 1:100 verdünnten „Knoll-Peptonröhrchen", dagegen nur in den 1:10 verdünnten „Witte-Röhrchen". Alle anderen geprüften Stämme wuchsen gleichmäßig nur in den unverdünnten Peptonwasserröhrchen.

Im „Witte-Wülfing"-Vergleich zeigte sich „Witte-Pepton" insofern überlegen, als Coli- und Pseudomilzbrandbazillen noch in der Verdünnung 1:10, alle anderen aber nur im unverdünnten „Witte-Peptonwasser" wuchsen. In den „Wülfing-Röhrchen" war ein Wachstum nur in den unverdünnten vorhanden.

3) Die Wachstumsgrenzen bei Verdünnungen des 1-proz. Peptonwassers in 1:100 verdünntem Fleischwasser zeigten im „Witte-Knoll"-Vergleich eine Ueberlegenheit des „Knoll-Peptons" bei Coli-Bazillen und Staphylokokken. Diese wuchsen noch in den „Knoll-Röhrchen" 1:100, dagegen nur in den „Witte-Röhrchen 1:10. Gleichmäßig waren die Wachstumsgrenzen für Typhusbazillen im 1:10 verdünnten, für Choleravibrionen im unverdünnten und für Pseudomilzbrandbazillen im 1:100 verdünnten sowohl „Witte"- wie auch „Knoll"-Peptonwasser.

Im Vergleich „Witte-Wülfing" zeitigte wieder „Witte" bessere Wachstumsergebnisse als „Wülfing", und zwar bei Typhus-, Coli-, Pseudomilzbrandbazillen und Staphylokokken: In „Witte-Röhrchen" wuchsen Typhusbazillen bei 1:10, Coli-Bazillen bei 1:100, Staphylokokken bei 1:10 und Pseudomilzbrand bei 1:100, dagegen in „Wülfing-Röhrchen" Typhusbazillen und Staphylokokken nur im unverdünnten Peptonwasser, Coli- und Pseudomilzbrandbazillen in dem 1:10 verdünnten. Choleravibrionen wuchsen beide Male nur in dem unverdünnten Peptonwasser.

B. Die Wachstumsergebnisse auf den festen Nährböden, die sich von den flüssigen lediglich durch den Zusatz von $1^1/_2$-proz. Agar unterschieden, zeigen an sich schon bemerkenswerte Abweichungen von den in den Nährflüssigkeiten erhaltenen.

1) Bei den Verdünnungen mit destilliertem Wasser ließ der Vergleich des „Witte"- und „Knoll"-Peptons kaum einen Vorzug des einen Peptons vor dem anderen erkennen. Nur Staphylokokken wuchsen auf den 1:10 verdünnten „Knoll-Platten", dagegen bei „Witte" nur auf den unverdünnten Platten. Alle anderen geprüften Stämme wuchsen auf „Witte" und „Knoll" gleichmäßig, Typhusbazillen und Choleravibrionen nur auf unverdünnten, Coli- und Pseudomilzbrandbazillen auf 1:10 verdünnten.

Bei dem Wachstum der Coli-Bazillen in dieser Reihe machte ich eine Beobachtung, auf die ich später noch zurückkommen werde, nämlich daß die Coli-Bazillen auch auf der 1:100000 verdünnten „Knoll-Platte" wuchsen, ohne daß in den dazwischen liegenden Verdünnungsstufen Wachstum aufgetreten wäre.

Der Vergleich „Witte-Wülfing sprach zugunsten des „Witte"-Peptons. Das Wachstum des von mir verwendeten Coli-Stammes, das bei „Witte" 1:10000 und bei „Wülfing" $1:\infty$ noch positiv war, ist zwar nicht beweisend zugunsten eines der beiden Peptone, da, wie weiter unten angeführt, es auf den Kontrollplatten auch noch positiv war. Typhus- und Pseudomilzbrandbazillen dagegen wuchsen noch auf „Witte-Platten" 1:100, aber nur auf „Wülfing-Platten" 1:10. Choleravibrionen und Staphylokokken zeigten noch Wachstum auf „Witte-Platten 1:10, aber nur auf den unverdünnten „Wülfing-Platten".

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Bei Verwendung der oben beschriebenen Salzlösung als Verdünnungsmedium zeigte sich das „Knoll-Pepton" wohl dem „Witte-Pepton" etwas überlegen. Typhusbazillen wuchsen bei beiden Peptonen nur auf den unverdünnten Platten, dagegen Coli-Bazillen auf „Witte" 1:10 und „Knoll" 1:1000; Choleravibrionen auf „Witte" 1:10 und „Knoll" 1:100; Staphylokokken und Pseudomilzbrandbazillen nur auf unverdünnten „Witte-Platten" und auf 1:10 verdünnten „Knoll-Platten".

Im Vergleich „Witte-Wülfing" war eine ziemliche Gleichmäßigkeit vorhanden, nur Pseudomilzbrandbazillen wuchsen auf „Witte" 1:10, jedoch nur auf den unverdünnten „Wülfing-Platten". Typhusbazillen, Choleravibrionen und Staphylokokken wuchsen bei beiden Peptonsorten nur auf den unverdünnten Platten, Coli-Bazillen noch bei $1:\infty$.

3) In den Reihen, in denen mit destilliertem Wasser 1:100 verdünntes Fleischwasser als Verdünnungsmedium diente, zeigte sich „Witte"- und „Knoll"-Pepton als völlig gleichwertig. Die Wachstumsgrenzen lagen bei beiden Peptonen in den gleichen Verdünnungsgraden: für Typhusbazillen bei 1:10, für Coli-Bazillen bei 1:1000, für Choleravibrionen schon auf den unverdünnten Platten, für Staphylokokken bei 1:1000 und für Pseudomilzbrand bei 1:10000.

Im Vergleich „Witte-Wülfing" dagegen war eine Ueberlegenheit des „Witte-Peptons unverkennbar. Zur Beurteilung schaltet hierbei auch das Wachstum der Coli- und Pseudomilzbrandbazillen aus, das bei beiden auch auf den Kontrollplatten positiv war. Typhusbazillen wuchsen auf „Witte-Platten" 1:100 und nur auf „Wülfing-Platten" 1:10, Choleravibrionen auf „Witte" 1:10, dagegen nur auf der unverdünnten „Wülfing-Platte" und Staphylokokken sogar auf „Witte" 1:10000 und nur auf „Wülfing" 1:10.

Als Versuchskontrolle diente mir, wie schon oben angeführt, das Wachstum in den Verdünnungsmedien allein, die sowohl als flüssige Nährmedien wie auch als feste nach Zusatz von $1^1/_2$ Proz. Agar geboten wurden. In den flüssigen Verdünnungsmedien war nirgends ein Wachstum einer der im Versuche gebrauchten Kulturen festzustellen. Auf den Platten waren dagegen Coli-Bazillen bei allen drei Verdünnungsmedien und Pseudomilzbrandbazillen auf dem verdünnten Fleischwasseragar gewachsen, während Typhusbazillen, Staphylokokken und Choleravibrionen kein Wachstum erkennen ließen.

In dieser Richtung angestellte Versuche ergaben, daß von vollwertigen Nährböden auf einfachen Wasseragar überimpfte Coli- und Pseudomilzbrandkulturen eine gewisse Wachstumsenergie besitzen, die es gestattet, daß die Coli- und Pseudomilzbrandbazillen sich bei fortlaufender Weiterimpfung auf solchen „Hungernährböden" noch einige wenige Zuchten hindurch fortpflanzen, bevor sie zugrunde gehen. So läßt sich auch das scheinbar widersinnige Wachstum der Coli-Bazillen auf der „Knoll"-Agarplatte-Verdünnung mit destill. Wasser 1:100000 erklären.

Bei der p_H'-Bestimmung nach Michaelis erhielt ich für 1-proz „Witte"-Peptonwasser p_H' 7,8, für 1-proz. „Wülfing"-Peptonwasser p_H' 7,7; für 1-proz. „Witte"-Fleischwasser p_H' 7,0 und den gleichen p_H'-Wert für 1-proz. „Wülfing"-Fleischwasser. Auf Reaktionsunterschied kann also dieses ungleiche Verhalten nicht zurückgeführt werden.

Das Ergebnis meiner vergleichenden Untersuchungen des „Witte"-, „Knoll"- und „Wülfing"-Peptons glaube ich dahin zusammenfassen zu dürfen, daß sich die angewandte Technik zur Unterscheidung des Gebrauchswertes der einzelnen Peptone bewährt hat. Während bei einfachem Ersatz des „Witte"-Peptons durch „Knoll" oder „Wülfing" Unterschiede nicht zutage traten, zeigte sich bei der angewandten Grenzwertbestimmung das Pepton „Knoll" dem Pepton „Witte" gleichwertig, in einigen Fällen sogar überlegen, wohingegen das „Wülfing"-Pepton etwas zurückblieb.

Zum Schluß möchte ich noch erwähnen, daß selbstverständlich das aus dieser Vergleichsprüfung abgeleitete Urteil über diese Peptonsorten

Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

keine Geltung bei Verwendung der einzelnen Peptone für Spezialnährböden haben kann. So zeigte mir ein Versuch der Verwendung des Peptons „Knoll“ für den polytropen Nährboden nach L. Lange, daß hierbei mit dem Pepton „Knoll“ gänzlich abweichende Ergebnisse von den mit Pepton „Witte“ erzielten erhalten werden.

Nachdruck verboten.

Die Riegelsche Amöbenfärbung beim Studium der feineren Struktur von Zuchtamöben.

[Aus dem Georg Speyer-Haus Frankfurt a. Main (Direktor: Geh. Medizinalrat W. Kolle).]

Von Dr. **Rud. Oehler.**

Im Jahre 1918 veröffentlichte W. Riegel im Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 22. S. 217—269 ein Verfahren zur Schnellfärbung von Amöben. Er empfiehlt es zu diagnostischen Zwecken bei Ruhruntersuchungen. Das Verfahren wird von den Nachuntersuchern als eine Erleichterung des Amöbennachweises gerühmt. Was es bei den Stuhluntersuchungen leistet, darüber habe ich keine Erfahrung. Ich kann nur sagen, daß ich beim Suchen nach Amöben im menschlichen Zahnbelag und bei Durchmusterung von Darminhalt des Mäusekolon auf Amöben lieber das frische, ungefärbte Präparat verwende, da die Bewegung, wie nichts sonst, den Amöbenbefund sicherstellt. Gefärbte Amöbenpräparate bei Stuhluntersuchungen und Munduntersuchungen sind als aufhebbare Befundurkunden wertvoll. Aber dafür leistet die Riegel-Färbung nichts, weil diese Präparate in wenigen Stunden verblassen.

Sie leistet aber Vorzügliches zur Erkennung des feineren Innenbaues der Amöben, vor allem zur Kennzeichnung des Ekto- und Endoplasma, zum Studium der Zelleinschlüsse, seien es im Plasma auftretende Körnelungen, sei es zur Färbung von aufgenommener Nahrung in den Vakuolen.

Ich habe bei einer Reihe von Zuchtamöben die Riegelsche Färbung angewendet und kann sie nur wärmstens empfehlen. Für den, der Riegels Arbeit nicht zur Hand hat, will ich die Anweisung zur Herstellung der Farblösung hier wiederholen.

5 ccm Manson-Lösung (das ist Borax: 5 + Wasser: 100 + Methylenblau: 2) werden mit der gleichen Menge reinen Chloroforms geschüttelt. Dabei geht die Farbbase in rubinroter Farbe im Chloroform in Lösung. Die Chloroformfarbe wird mit der Pipette vom Grund des Glases abgehoben und zur Sicherung gegen mitgenommene blaue Wasserfarbe filtriert. Die Chloroformfarbe ist erst rein rot. Die folgenden Tage nimmt sie bläulichen Ton an, wohl durch die Kohlensäure der Luft. Sie bleibt aber auch so lange brauchbar. Auf Filtrierpapier aufgetropft, gibt sie einen blauen Fleck mit rosa Band. Wenn nicht Manson-Lösung zur Hand ist, tut es jede andere alkalische Methylenblaulösung auch. Einige Körnchen Methylenblau + Wasser + ein Körnchen Soda, oder 1 Tropfen Ammoniak geben, mit Chloroform ausgeschüttelt, die Riegelsche Farbe.

Man kann auch andere Farben verwenden. So löst sich Thionin aus alkalischer, wässeriger Lösung in Chloroform mit gelber Farbe. Fuchsin, Kristallviolett lösen sich ohne Vermittlung von Wasser in Chloro-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

form. Nitrobenzol löst diese Farben ebenso. Aber all die Ansätze leisten nicht mehr als das Riegelsche Chloroformmethylenblau. Diese habe ich somit bei Zuchtamöben angewendet.

Die Amöben werden auf Agar in Petri-Schalen gezüchtet. Ich verwende $^1/_{100}$ Wasseragar, auf dem ab Reinzuchtröhrchen eine kleine Oese Bakterienmasse mit Glasspatel verstrichen wird. Die Amöben werden auf der Plattenmitte aufgesetzt. Sie wandern aus, vermehren sich und überziehen die Platte. Zur Untersuchung wird mit dem Metallspatel eine Scholle Agar + Amöben ausgestochen und auf den Objektträger gelegt, so daß die Amöben oben bleiben. Soll gefärbt werden, so kommt ein Tropfen Riegel-Farbe auf die Agarscholle und wird nach $^1/_4$—$^1/_2$ Min. mit Filterpapier abgesogen. Der Rest des Chloroforms verdunstet alsbald. Ein Deckglas wird aufgelegt, und das Präparat ist fertig. Der von Riegel angegebene Zusatz von Paraffinum liquidum bleibt weg, weil sich das Deckglas auch ohne das der Agarfläche glatt anschmiegt.

Die Riegel-Farbe färbt die Bakterien auf dem Agar nur ganz schwach. Manche, wie Vibrio Metschnikoff, werden rötlich; andere, wie Staphylokken und Hefen, werden bläulich.

Die Amöben werden durch das Chloroform der Riegel-Farbe rasch abgetötet. Doch nicht so rasch wie durch die üblichen Sublimatgemische. Ihre Kriechform, die ausgestreckten Pseudopodien, bleiben manchmal, keineswegs immer, in der Lebensstellung erhalten. Meist ist die Amöbe leicht zusammengezogen; die Pulsvakuole zusammengezogen. Immerhin bleibt die Flachform auf der Agarfläche gut erhalten und gewährt guten Einblick in das Ekto- und Endoplasma. Am Ektoplasma zeigt sich, daß von Art zu Art merkliche Färbungsunterschiede bestehen. Bei Amöbe Hamburg Pe[1]) ist die ganze Amöbe, Ektoplasma und Endoplasma gut blau gefärbt. Im Gegensatz zu den meisten anderen Amöben, wo das Ektoplasma glasig hell und farblos bleibt. Es kommt aber auch vor, daß am Ektoplasma eine äußere, glasig ungefärbte Zone besteht, während eine wolkigblau gefärbte Innenzone das gekörnte Endoplasma umfaßt. Solches fand ich besonders deutlich bei der Telleramöbe. Aber auch die Teichamöbe 2 zeigt einen schmalen blauen Wolkensaum um das gekörnte Endoplasma.

Sehr farbarm, sowohl im Ekto- wie im Endoplasma, ist Amöbe Hamburg S. k. d. Das Endoplasma ist meist ausgesprochen oder doch zart blau gefärbt. Doch wechselt das mit dem Ernährungszustand der Amöbe. Oft erschweren die massenhaften Einlagerungen von Körnern, gefärbten und ungefärbten Bakterien und deren Abbaustufen die Beurteilung des Zustandes der Grundmasse.

Das Endoplasma ist immer gekörnt, bald fein und feinst, bald mit groben Schollen durchsetzt. Meist sind diese bei Riegel-Färbung weiß. Ich nenne sie darum „Weißkörner". Sie nehmen keine Fettfarbe, wie Sudan, an. Sie bleiben auch weiß nach Behandlung mit Osmiumsäure. Eine Sonderfärbung ist mir bisher nicht gelungen. Es bleibt darum beim Namen Weißkörner. Ihre Deutung steht dahin. Nur das kann ich sagen, daß sie bei Nahrungsmangel schwinden. Doch greift das weiter; denn hier soll nur über die Leistung der Riegel-Farbe gesprochen werden.

Aufgenommene Hefen und Bakterien bleiben kurze Zeit ungefärbt. Dann, wenn sie von den Verdauungssäften der Zelle angegriffen und

1) Ich gebe hier nur die Laboratoriumsnamen der Amöben, da deren Systembenennung noch nicht feststeht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

abgetötet sind, werden sie gut blau gefärbt. Rot färbt sich der Vakuoleninhalt der Verdauungsstellen; aber auch nicht immer. Bei Fütterung mit Heubazillen, mit Vibrio Metschnikoff, mit Chlorella vulgaris liefert Teichamöbe 2 rote Verdauungsvakuolen. Bei Fütterung mit Bact. xerosis und mit Saccharomyces exiguus bleibt der Vakuolensaft ungefärbt, und die eingeschlossenen Nahrungskörper sind blau. Die Abbautrümmer behalten diese Farbe oder werden unkenntlich.

Rote Nahrungskörner in rotem Vakuolensaft sieht man bei Teichamöbe 2, die mit Blut gefüttert wurde.

Ausgezeichnet durch ihren schön gefärbten roten Vakuolensaft ist die lichte und übersichtliche Amöbe Hamburg s. k. d.; auch bei Fütterung mit B. xerosis.

Der Kern der Amöben zeigt bei Riegel-Färbung deutliche Außenmembran, breite, lichte Zone und ein kuchenförmiges, dunkelblau gefärbtes Karyosom. Kernteilungsfiguren habe ich nicht gesehen; manchmal statt des Karyosoms 4 bis 6 kleine farbige Körner. Ich vermute, daß das Chloroform die Kernteilungsglieder nicht rasch genug zur Erstarrung bringt.

Die „Telleramöbe" hat einen bläschenförmigen Kern. Alles Chromatin ist in Schollen auf der Kernmembran verteilt. Das Innere des Kernes ist leer. Es besteht also kein Karyosom. All diese Dinge bringt die Riegel-Färbung in kürzester Frist bestens zur Anschauung.

Das Mitgeteilte mag eine Vorstellung von der Leistungsfähigkeit der Riegel-Färbung geben. Ich empfehle sie angelegentlich zum Studium der feinen Innengliederung dieser und anderer Zellen.

Eingegangen sind: Originalarbeiten von

Prof. Dr. Okuda in Prag,
Tierarzt Dr. Becker in Uelzen,
Prof. Dr. Bürgers in Düsseldorf,
Mr. Mc. Gowan in Aberdeen, Schottland,
Hofrat Prof. Dr. Sumiyoshi in Wien.

Inhalt.

Bach, F. W., u. **Quast, P.,** Ueber Spirochäten im Darme von Cyclostoma elegans Drap. und ihre Beziehungen zu Trichodinopsis paradoxa Clap., S. 457.

Bering, H., Die Meinickesche Luestrübungsreaktion mit cholesterinfreien Balsamextrakten, S. 478.

Heuer, G., Ueber neue Peptonpräparate für die bakteriologische Praxis, S. 491.

Kakelík, J., u. **Freudmann, S.,** Ueber den Einfluß von Salzen auf die Vibrionen der Cholera asiatica, S. 407.

Kadisch, Ernst, Ueber Sauerstoffindikatoren in der Bakteriologie, S. 462.

Kressler, Alice, Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Ausflockungsreaktion nach Bruck zur Luesdiagnose, S. 488.

Lemm, Hildegard, Zur Frage der Agglutination der Pfeifferschen Influenzabazillen und ihrer diagnostischen Verwertbarkeit, S. 414.

Oehler, Rud., Die Riegelsche Amöbenfärbung beim Studium der feineren Struktur von Zuchtamöben, S. 494.

Presting, Herbert, Zur Unterscheidung der Streptokokken und Pneumokokken, S. 424.

Sommer, Hugo, Die Keimzählung in Bakterienimpfstoffen auf mikroskopischem Wege, S. 468.

Sumiyoshi, Yataro, Bacillus aromaticus aërogenes cavi, S. 461.

Sütterlin, Theobald, Vergleichende Untersuchungen an russischen Paratyphusstämmen, S. 419.

Tinti, Mario, Einfluß von Vitaminen auf das Wachstum einiger Bakterienarten, S. 401.

Wagner, Gerhard, Beiträge zur Kenntnis der Milzbrand- und milzbrandähnlichen Bazillen, S. 433.

Waldmann, O., u. **Trautwein, K.,** Die Maul- und Klauenseucheimmunität nach künstlicher und spontaner Infektion sowie nach simultaner Impfung, S. 448.

Willerding, Ueber die Bereitungsweise der 5 - proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung zur Komplementbindung, S. 481.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 90. Heft 7/8.

Ausgegeben am 31. August 1923.

Nachdruck verboten.

Ueber den Flecktyphuserreger.

Von Dr. **Marcus Rabinowitsch,**
Professor der Bakteriologie an der Mediz. Akademie zu Charkow.

Einleitung.

Infolge der durch den Krieg gebotenen günstigen Gelegenheit sind zwar verschiedene, auf den Flecktyphus bezügliche Fragen geklärt und einige neue Tatsachen, besonders dank den geistreichen Versuchen von Weil und Felix, entdeckt worden, aber zur Feststellung der Aetiologie der Krankheit ist nur wenig beigetragen worden.

Der Grund liegt meiner Ansicht nach darin, daß viele Forscher mit der vorgefaßten Meinung, daß der Flecktyphuserreger zu den Protozoen oder sogar zu den filtrierbaren Mikroorganismen gehören müsse, ihre Untersuchungen begonnen haben und der bakteriologischen Untersuchung des Blutes der Flecktyphuskranken und der Organe an Flecktyphus Verstorbener, wie auch der nach einer Flecktyphusinfektion erkrankter Tiere sehr wenig Aufmerksamkeit geschenkt haben.

Zahlreiche bakteriologische Blutuntersuchungen sind zwar ausgeführt worden, aber nur auf den gewöhnlichen gebräuchlichen Nährböden, und keiner der zahlreichen Forscher hat es für notwendig gehalten, einen für diesen Fall besser passenden Nährboden herzustellen. Schon Robert Kochs grundlegende und die auch darauf fußenden späteren Arbeiten haben aber ergeben, daß gerade die Herstellung eines entsprechenden spezifischen Nährbodens bei der Forschung nach unbekannten Krankheitserregern von größter Wichtigkeit ist. Dadurch gelang die Züchtung der Erreger der Tuberkulose, Cholera, Diphtherie, Influenza, Gonorrhöe u. a.

Dagegen hat man bisher den Leprabazillus und die verschiedenen Spirochäten, an deren ätiologischer Beziehung zu den entsprechenden Krankheiten nicht gezweifelt wird, nicht in Reinkultur gezüchtet, weil für dieselben passende Nährböden noch nicht hergestellt worden sind. Es kann daher aus dem Umstande, daß die Züchtung des Flecktyphuserregers nicht regelmäßig gelungen ist, die bakterielle Natur desselben nicht in Abrede gestellt werden. Hierzu kommt noch, daß das klinische Bild des Flecktyphus, die schweren toxischen Erscheinungen und die nie fehlenden spezifischen entzündlichen Veränderungen an den kleinen Blutgefäßen aller Organe dafür sprechen, daß der Flecktyphuserreger zu den stark toxischen Bakterien gehören muß. Dafür spricht weiter noch, daß im Blute Flecktyphuskranker die verschiedensten Immunkörper, hauptsächlich kurz vor und nach der Krisis, sich so anhäufen, wie das bei keiner anderen Infektionskrankheit bekannt ist.

Diesen überzeugenden Tatsachen gegenüber sind die Behauptungen von der Protozoennatur des Flecktyphuserregers nichts weniger als beweisend. Der zur Verfügung stehende Raum verbietet es, näher hierauf einzugehen, abgesehen von den interessanten, an sich sehr wertvollen Beobachtungen von da Rocha-Lima.

Letzterer hat zwar nachgewiesen, daß im Darm der Flecktyphusläuse regelmäßig ganz bestimmte, zuerst von Ricketts beobachtete und als Bakterien gedeutete, bipolare, häufig paarweise liegende, dem von mir entdeckten Diplobacillus sehr ähnliche und dort sich vermehrende Gebilde vorkommen, hat aber, ebenso wie sämtliche Autoren, die seine Befunde bestätigt haben, keinen einzigen Beweis dafür erbracht, daß die von ihm Rickettsia Prowazeki genannte Gebilde wirklich Protozoen sind. Der bekanntlich bei den Protozoen im Wirtsorganismus auftretende Entwicklungszyklus ist aber weder von da Rocha-Lima, noch von einem anderen Forscher in den Läusen, im Körper der Flecktyphuskranken oder im infizierten Tierkörper nachgewiesen worden. Dagegen konnten einige Forscher ebenso wie ich bipolare Körperchen aus den infizierten Läusen in Reinkultur züchten und ihre Identität mit dem Diplobacillus nachweisen.

Bei Fehlen eines elektiven Nährbodens für den Flecktyphuserreger ist die Züchtung des Diplobacillus aus dem Läusedarm natürlich schwierig, aber die einzelnen positiven Ergebnisse haben viel mehr Beweiskraft als die zahlreichen negativen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schon vor dem Kriege haben Sergent, Foley und Vialatte[1]) auf Grund sorgfältiger Beobachtungen an vielen Tausenden von Flecktyphus- und anderen Läusen darauf hingewiesen, daß die bipolaren, in den Flecktyphusläusen beobachteten Körperchen mit dem Diplobacillus identisch sind, was auch Czernel[2]) Krjischkowsky[3]), Popoff[4]), Olitsky, Denzer, Husk[5]) und neuerdings auch Hoogenhuijzen[6]) betont haben.

Die neuesten interessanten Untersuchungen Kuczynskis[7]) stimmen, entgegen manchen anderen Behauptungen, sehr gut damit überein, denn bei der Züchtung aus den Organen in in die Bauchhöhle von Meerschweinchen versenkten Celloidinsäckchen vermehrten sich die Diplobazillen, die ich schon 1908[8]) in den verschiedenen Organen und in Schnitten durch Hautexantheme nachgewiesen habe.

Gegen die Behauptung, daß die Beteiligung der Läuse an der Ausbreitung des Flecktyphus ein Beweis für die Protozoennatur des Flecktyphuserregers sei, spricht schon die Tatsache, daß verschiedene andere Infektionskrankheiten, wie Pest, Milzbrand und Spirillosen, durch stechende Insekten verbreitet und trotzdem durch Bakterien erzeugt werden.

Uebrigens ist die Verbreitungsweise des Flecktyphus noch lange nicht geklärt und vieles spricht für die Notwendigkeit weiterer Nachforschungen über diese Frage.

Bezüglich der Filtrierbarkeit des Flecktyphusvirus scheint Nicolle selbst seine diesbezüglichen Behauptungen[9]) nicht mehr aufrecht zu halten.

Man kann daher auf Grund der in den letzten Jahren gemachten Erfahrungen annehmen, daß der Flecktyphuserreger zu den Bakterien gehört, desgleichen Rickettsia. Denn sowohl bei Flecktyphuskranken als auch bei mit Flecktyphusvirus infizierten Tieren und bei Läusen ist der von mir gefundene, nach Giemsa bipolar sich färbende, häufig paarweise vorkommende Diplobacillus nachgewiesen worden. Dieser findet sich in den Organen und Hautexanthemen von Flecktyphusleichen und der infizierten Tiere wie auch in den Blutausstrichen von Flecktyphuskranken und konnte auch aus dem Krankenblute und den Organen in Reinkultur gezüchtet werden.

Die Züchtung des Diplobacillus ist mir bei meinen ersten Untersuchungen, ebenso wie Fürth[10]), P. Th. Müller[11]) Wilson[12]), Silberberg[13]) Goldstein[14]), Czernel[15]), Burowa[16]), Nedrigajlow[16]), Sawateew[16]), Lochow[16]), Beresnew[16]), Krjischkowsky[16]), Plotz, Olitsky und Baehr[17]), Denzer und Husk[18]), Popoff[19]), Paneth[20]) Przygoda[21]), Rosenberg[22]) Hoogenhuijzen[23]) u. a., wenn auch nicht immer, doch in zahlreichen Fallen gelungen und dann viel häufiger bei der Benutzung passenden Nährbodens[24]). Aber erst, nachdem ich dem Nährboden frische Organstücke vom Meerschweinchen zugesetzt hatte, konnte ich den Diplobazillus fast regelmäßig aus dem Krankenblute züchten[25]).

---

1) Compt. rend. Soc. Biol. 1914. p. 101.
2) Wien. klin. Wochenschr. 1916. Nr. 52.
3) Wissenschaftliche Beratungen der Militärärzte der Westfront in Minsk. März 1916.
4) Dtsch. med. Wochenschr. 1916.
5) Med. Rec. 17. Febr. 1917.
6) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82.
7) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 8. Tagung der Mikrobiolog. Vereinigung.
8) Arch. f. Hyg. Bd. 71; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52.
9) Ueber den Flecktyphuserreger (Diplobacillus exanthematicus). Charkow 1914.
10) Ztschr. f. Hyg. Bd. 70.
11) München. med. Wochenschr. 1913; Arch. f. Hyg. Bd. 81.
12) Journ. of Hyg. Vol. 10.
13) Obtschestwenny Wratsch. 1912.
14) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78.
15) Wien. klin. Wochenschr. 1916. Nr. 35 u. 52.
16) Wissensch. Beratungen d. Militärärzte der Westfront in Minsk. 1916.
17) Proceed. New York Pathol. Soc. Vol. 15. 1915.
18) Med. Rec. 1917
19) Dtsch. med. Wochenschr. 1916.
20) Med. Klin. 1916.
21) Dtsch. med. Wochenschr. 1917.
22) Sammelwerk d. Tagung über Flecktyphus in Petersburg. 16.—19. Febr. 1920.
23) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82.
24) München. med. Wochenschr. 1913.
25) Ueber den Flecktyphuserreger (Diplobacillus exanthematicus). Charkow 1914.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schon bei meinen ersten Untersuchungen habe ich die Empfänglichkeit der Laboratoriumstiere (Meerschweinchen, Kaninchen, Ratten und Mäuse) für die Impfung mit Krankenblut und die aus denselben gezüchteten Diplobacillus zuerst festgestellt und den Beweis geliefert, daß in den Organen der mit Krankenblut geimpften Tiere der Diplobacillus nachweisbar ist.

Ueber die Ergebnisse sämtlicher derartiger, wie auch serologischer und Immunitätsversuche, die während der Kriegsjahre fortgesetzt worden sind, wird hier kurz berichtet:

I. Bakteriologische Untersuchungen.

Für diese wurde im Paroxysmus und in den ersten Tagen der Apyrexie von Flecktyphuskranken steril entnommenes Venenblut aus der Armvene benutzt, das teils direkt, teils nach Vermischung mit $^1/_4$ des Volumens von 1 Proz. Natr. citricum-Lösung von je 3—5 ccm auf 100 ccm flüssigen Nährbodens verimpft, 48 Std. bei 37,5° im Thermostaten gelassen und nachher auf feste Nährböden überimpft wurde.

Als flüssiger Nährboden diente schwach alkalische 4-proz. Glyzerinbouillon, der das gleiche Volumen steriler Aszitesflüssigkeit und mehrere Stückchen Meerschweinchenniere zugesetzt wurden. Die Zusammensetzung des festen Nährbodens war folgende: 4-proz. Agar-Agar 600 ccm, Glyzerin 30 ccm, Aszitesflüssigkeit 300 ccm, Menschenblut 50 ccm.

Das Blut wird der leicht erwärmten Aszitesflüssigkeit zugesetzt, mit dem verflüssigten und auf 60-55° C abgekühlten Glyzerinagar vermischt und auf Drigalski-Schalen ausgegossen.

Bei der Ueberimpfung von flüssigem auf den festen Nährboden wurde mit einer graduierten, mit einem sterilen Gummiballon versehenen Pipette nach kräftigem Schütteln ca. 5 ccm der Aszites-Bouillonhämokultur angesaugt und sofort auf 4—5 Drigalski-Schalen mit dem festen Nährboden verimpft. So wurde systematisch das Blut von 74 Flecktyphuskranken im Alter von 9—51 Jahren untersucht, und zwar meist je 2mal, in einigen Fällen je 3—4mal. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind aus Tabelle 1 zu ersehen:

Tabelle 1.

Wievielmal untersucht	Mit positivem Resultat	Mit negativem Resultat	Zusammen	Prozent der positiven Fälle
1	8	8	16	50,0
2	36	5	41	87,8
3	13	0	13	100,0
4	4	0	4	100,0
Im ganzen	61	13	74	82,4

Nach dieser Tabelle ist es bei einmaliger Blutuntersuchung nur in 50 Proz. gelungen, den Diplobacillus zu züchten, während dies bei wiederholter Untersuchung in 87,8 Proz. und, wenn das Blut 3- bzw. 4mal untersucht wurde, in sämtlichen Fällen gelang.

Im ganzen wurde das Blut der 74 Kranken 153mal untersucht mit den aus Tabelle 2 zu entnehmenden Ergebnissen:

Tabelle 2.

Ergebnisse	1. Aussaat	2. Aussaat	3. Aussaat	4. Aussaat	Zusammen
positive	32 = 43,2 Proz.	40 = 68,9 Proz.	15 = 88,2 Proz.	4 = 100 Proz.	91
negative	42 = 56,8 „	18 = 31,1 „	2 = 11,8 „	0 = 0 „	62
Im ganzen	74	58	17	4	153

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Diese Tabelle 2 zeigt noch deutlicher, daß die Zahl der positiven Blutuntersuchungen desto größer ist, je öfter das Blut bei demselben Kranken nach vorausgegangenen negativen Versuchen untersucht wird. Hierbei ist ein Zusammenhang der wiederholten Untersuchungen und der positiven Ergebnisse, wie dies auch Fürth betont hat, mit der Krankheitsperiode, in der Blut zur Untersuchung von Kranken entnommen wird, festzustellen.

Da bei ungebildeten und meist in schwerem Zustande ins Krankenhaus eingelieferten Kranken der Krankheitstag nicht zu ermitteln ist, habe ich den Tag der Krise als Anhaltspunkt genommen und die Krankheitsperiode vor und nach derselben bestimmt (Tabelle 3):

Tabelle 3.

Krankheits-periode	Tag der Krankheits-periode	Positive Resultate	Negative Resultate	Zusammen	Prozent der positiv. Result.
Apyrexie	6	0	1	1	0
,,	5	0	1	1	0
,,	3	1	0	1	100,0
,,	1	2	0	2	100,0
Krisis	—	4	1	5	80,0
vor der Krisis	1	5	5	10	50,0
dgl.	2	10	4	14	71,5
,,	3	13	1	14	92,8
,,	4	7	3	10	70,0
,,	5	11	3	14	78,7
,,	6	6	8	14	42,8
,,	7	4	6	10	40,0
,,	8	3	9	12	25,0
,,	9	3	7	10	30,0
,,	10	2	5	7	28,6
,,	11	1	4	5	20,0
,,	12	0	1	1	0
,,	13	0	1	1	0
,,	14	1	1	2	50,0
,,	15	2	1	3	66,6
,,	17	1	0	1	100,0
,,	18	1	0	1	100,0
,,	21	1	0	1	100,0
,,					

Nach Tab. 3 gelang die Züchtung des Diplobacillus am häufigsten zwischen dem 2. und 6. Tag vor der Krisis. Weiter ist aus derselben zu entnehmen, daß in mehreren Fällen die Züchtung des Diplobacillus schon in den ersten Tagen der Erkrankung gelungen ist, wobei es sich aber um klinisch besonders schwer verlaufende Fälle gehandelt hat. In diesen schweren Flecktyphusfällen, bei denen 8 Kranke gestorben sind, war das Blut mit Diplobazillen, was in jedem Blutausstriche mikro-

Tabelle 4.

Zahl der untersuchten Fälle	Zahl der Aussaaten in jedem Fall	Von den Aussaaten 1 positiver	Von den Aussaaten 2 positive	Von den Aussaaten 3 positive	Von den Aussaaten 4 positive	Sämtliche Aussaaten negativ
16	1	8	—	—	—	8
41	2	24	12	—	—	5
13	3	6	3	4	—	0
4	4	1	—	2	1	0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

skopisch leicht nachweisbar war, überschwemmt, die, wie Tab. 4 zeigt, bei jeder der wiederholten Aussaaten in Reinkultur gezüchtet wurden.

Von den 74 Flecktyphuskranken war also in 58 Fällen das Blut wiederholt untersucht, wobei in 1 Falle 4mal, in 6 Fällen je 3mal und in 15 Fällen je 2mal der Diplobacillus gezüchtet wurde. Dabei wurden, wie sich aus Tab. 3 ergibt, die Diplobazillen, von den erwähnten, klinisch sehr schwer verlaufenden Fällen abgesehen, um so häufiger aus dem Blute erhalten, je näher der Krisis das Blut zur Untersuchung den Kranken entnommen worden war.

Wie erklärt es sich nun aber, daß bei schweren Flecktyphusfällen, bei denen, wie auch Rosenberg[1]) festgestellt hat, das Blut von Diplobazillen überschwemmt ist, die Züchtung derselben aus dem Blute so leicht schon in den ersten Krankheitstagen und bei jeder weiteren Aussaat während bes Krankheitsverlaufes gelingt? Besteht diesbezüglich ein Zusammenhang mit der Zahl der im Blute vorhandenen Diplobazillen, so fragt es sich, warum sie schon in den ersten Krankheitstagen ins Blut gelangen und sich dort so schnell und stark nur in wenigen Fällen vermehren, in den meisten dagegen, wie auch aus den Untersuchungen von Plotz, Olitsky und Baehr folgt, wenn überhaupt, nur in vereinzelten Exemplaren vorkommen, sich nur im weiteren Verlauf der Krankheit vermehren. Vielleicht erklärt sich diese Erscheinung dadurch, daß der Diplobacillus hauptsächlich ein Gewebsparasit ist, für den das Blut kein zusagender Nährboden ist, denn dafür sprechen auch die proliferativ-entzündlichen, pathologisch-anatomischen Veränderungen bei Flecktyphuskranken. Erst nachdem der Diplobacillus in den Geweben sich vermehrt hat und von dort aus seine Toxine ins Blut gekommen sind, wird dieses so verändert, daß es für ihn zusagender wird, und er sich auch im Blute vermehren kann.

In einigen Fällen kann sich eine entsprechende Veränderung des Blutes schon vor der Erkrankung an Flecktyphus finden, die es dem Diplobacillus ermöglicht, beim Eindringen in den Körper im Blute haften zu bleiben und sich dort stark zu vermehren. Auch ist es wohl möglich, daß dabei die Virulenz des betreffenden Stammes des Diplobacillus eine wichtige Rolle spielt, wenn er bei hoher Virulenz den störenden Eigenschaften des normalen Blutes gegenüber weniger empfindlich ist.

Für diese Annahme spricht, daß beim experimentellen Flecktyphus die Organemulsionen bedeutend virulenter sind als das Krankenblut, und daß die Virulenz des letzteren, wie auch des aus demselben gezüchtete Diplobacillus für Meerschweinchen, wie weiter unten nachgewiesen werden soll, mit der Schwere des klinischen Verlaufes beim entsprechenden Kranken korrespondiert.

Gehen wir nun auf die morphologischen, tinktoriellen und biologischen Eigenschaften des aus dem Blute der Flecktyphuskranken gezüchteten Diplobacillus über:

Morphologie: Kurze, plumpe, meist paarweise mit dem Längsdurchmesser aneinander gelagerte Stäbchen mit abgerundeten oder leicht zugespitzten Enden ohne Geißeln und Kapseln, die kleine Sporen bilden. In älteren Kulturen kommen hantel-, bisquit- und kugelige Formen und kurze Fäden vor. Bei Uebertragung einer solchen älteren Kultur auf

1) Sammelwerk der Tagung über Flecktyphus. 16.—19. Febr. 1920 in Petersburg.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

frischen Nährboden treten die typischen Diplobazillen zutage, die in Ausstrichpräparaten häufig palisadenartig geordnet sind[1]).

Die **Färbung** der Diplobazillen in Reinkulturpräparaten gelingt leicht mit den verschiedenen Anilinfarben und die bipolaren Körperchen lassen sich am besten durch die Giemsa-Färbung zeigen. Bei der Gram-Färbung sind alle Exemplare aus frisch gezüchteten Kulturen grampositiv, in älteren aber kommen auch gramnegative Exemplare vor, bis sie endlich alle gramnegativ werden.

Züchtung der isolierten Reinkultur gelingt weiter auf den verschiedensten Nährböden unter aëroben Bedingungen leicht, und je nach dem benutzten Nährboden sind Aussehen und Ueppigkeit der Kultur sehr verschieden.

Bouillon (schwach alkalisch) erscheint nach 24—48 Std. leicht getrübt, klärt sich aber nach weiteren 24 Std. und am Boden des Reagenzröhrchens erscheint ein feiner, krümeliger, häufig an den Wänden haftender Bodensatz. In Glyzerin-Azcites-Bouillon ist das Wachstum viel üppiger, desgleichen in Traubenzuckerbouillon; Gas wird hier nicht gebildet. Milch wird in 2—3 Wochen weder koaguliert noch peptonisiert, Petruschky- und Barsiekow-Molken werden nicht verändert. Auf Agar-Agar erscheinen winzige, etwas trockene, durchscheinende, denen des Streptococcus ähnliche Kolonien. die bei schwacher Vergrößerung fein gekörnte Oberfläche und unregelmäßigen Rand zeigen. Aszites-Glyzerin-Agar: größere, weißlichgraue Kolonien mit gröberen Körnchen und gezacktem Rand. Auf Gelatine wachsen frisch isolierte Kulturen überhaupt nicht, wiederholt überimpfte aber sehr spärlich und verflüssigen die Gelatine nicht. Glyzerinserum: Aehnliches Wachstum wie auf Glyzerin-Aszites-Agar, aber etwas spärlicher; noch spärlicher ist das Wachstum auf Löffler-Serum. Conradi-Drigalski-Agar verändert sich auch in 2 Wochen nicht, das Wachstum erfolgt langsam, die winzigen Kolonien sind durchscheinend blau und erreichen in 5—6 Tagen Stecknadelkopfgröße. Kartoffel: frisch isolierte Kulturen zeigen kein bemerkliches Wachstum; ältere, wiederholt überimpfte bilden kaum bemerkbaren, grauweißlichen Belag. Temperaturoptimum: 37,5° C; Indol wird nicht gebildet; hämolytische Eigenschaften zeigten 18 der Kulturen; nach längerem Züchten auf künstlichen Nährböden geht diese Eigenschaft wieder verloren. Toxine konnten in mehreren, 7 Tage alten Glyzerin- und Zuckerbouillonkulturen nachgewiesen werden. Nach subkutaner Injektion von 0,5—1,0 ccm dieser Kulturen gehen die infizierten Meerschweinchen in weniger als 24 Std. zugrunde.

Den oben geschilderten Diplobacillus züchtete ich durch Verwendung eines passenden Nährbodens und wiederholte Aussaaten von demselben Falle in 82,4 Proz. aus dem Blute von Flecktyphuskranken.

Die Zusammensetzung des Nährbodens war dabei von größter Bedeutung, wie aus folgenden Beobachtungen hervorgeht: Die zur Herstellung der Nährböden nötige große Menge von Aszitesflüssigkeit gewann ich von verschiedenen Kranken; dann wurde gleichzeitig der Bouillon Aszitesflüssigkeit verschiedener Herkunft zugefügt. Die mit verschiedener Aszitesflüssigkeit hergestellten Glyzerin-Bouillon-Nährböden wurden

1) Die Mikrophotogramme konnten aus technischen Gründen nicht gebracht werden. Red.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit dem Blute desselben Kranken geimpft, doch gelang die Züchtung des Diplobacillus nur auf Nährböden, denen eine bestimmte Aszitesflüssigkeit zugefügt worden war. Die Ursache für dieses Verhalten kann ich nicht erklären; jedenfalls ist es aber nötig, jede Aszitesflüssigkeit vor dem Verbrauche auf ihre Brauchbarkeit zu prüfen.

Die Herstellung des Nährbodens wird zwar dadurch etwas komplizierter, ist aber doch nicht so umständlich wie bei den von Plotz, Olitsky und Baehr und eignet sich viel besser zur Züchtung des Diplobacillus, wie daraus zu schließen ist, daß den amerikanischen Forschern die Züchtung desselben auf ihren Nährboden nur in 60 Proz. der untersuchten Fälle gelang.

Außerdem kann man, wie meine Beobachtungen gezeigt haben, auf dem amerikanischen Nährboden unter anaëroben Bedingungen auch in positiven Fällen von den 8 nach der Vorschrift von Plotz mit je 2 ccm Krankenblut beschickten Reagenzröhrchen, d. h. aus 16 ccm Krankenblut, meist nur eine einzige Kolonie in 1 Röhrchen wahrnehmen, was gegen das amerikanische Züchtungsverfahren spricht.

Die amerikanischen Forscher haben behauptet, daß ihr 1914 aus dem Fleckfieberblut gezüchteter Diplobacillus mit dem von mir 1908 gezüchteten, trotz gleicher morphologischer, tinktorieller, biologischer und serologischer Eigenschaften nicht identisch sei, weil er nur streng anaërob wächst. Ich habe aber, wie auch in Uebereinstimmung mit zahlreichen anderen Autoren, bewiesen, daß bei der weiteren Züchtung auf künstlichen Nährböden, und zwar auch auf dem Plotzschen Nährboden, aus dem Fleckfieberblute der anaërob isolierte Diplobacillus aërob weiter wächst. Plotz hat übrigens in seiner 1., im Journ. Americ. med. Assoc. 1914. p. 1556 erschienenen Abhandlung selbst darauf hingewiesen, daß der anaërob gezüchtete Diplobacillus bei weiterer Züchtung auch auf Nährböden ohne Zuckerzusatz aërob wächst. Allgemein bekannt ist ja jetzt, daß die strengsten Anaëroben unter bestimmten Bedingungen aërob gezüchtet werden können. Ich möchte aber noch darauf hinweisen, daß die von Plotz seinem Nährboden hinzugefügte Schwefelsäure von Einfluß auf die verschiedenen und daher auch auf die Wachstumseigenschaften des Diplobacillus sein kann. Haben doch die Untersuchungen von Hoogenhuijzen (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82) gezeigt, wie leicht der Diplobacillus in seinem Wachstum beeinflußt werden kann. Er hat meinen Diplobacillus aus Fleckfieberblut unter aëroben Bedingungen durch vorheriges Einbringen des Krankenblutes in eine hypotonische NaCl-Lösung und dann aus dieser auf verschiedene Nährböden überimpft.

Dies beweist, daß bei entsprechendem Verfahren auch auf einfacheren Nährböden als dem meinigen und vielleicht auch häufiger, als es mir gelungen ist, die Züchtung des Diplobacillus aus dem Krankenblute gelingt. Jedenfalls sprechen alle Eigenschaften der Mikroben dafür, daß Plotz denselben Diplobacillus exanthematicus gezüchtet hat, den ich im Arch. f. Hyg. Bd. 71 S. 331—79 beschrieben habe. Ich betone dies ausdrücklich, und zwar nicht aus Prioritätsgründen, sondern um die Aetiologie des Flecktyphus klarzustellen. Zu diesem Zwecke will ich hier auf die Untersuchungen hinweisen, die beweisen, daß auch die bipolaren doppelten Körperchen, die regelmäßig in den Flecktyphusläusen nachgewiesen werden und von da Rocha-Lima als Rickettsia-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Prowazeki bezeichnet wurden, mit dem Diplobacillus exanthematicus identisch sind.

Schon Krjischkowsky (Wissenschaftl. Sitz. d. Militärärzte d. Westfront. Minsk 1916) hat berichtet, daß es ihm gelungen ist, in 3 Reihen von Versuchen aus den an Flecktyphuskranken gefütterten Läusen bei der nach 1, 2 bzw. 3 Tagen vorgenommenen bakteriologischen Untersuchung den Diplobacillus regelmäßig zu züchten. Am leichtesten und schnellsten gelang diese aus dem Kote der Läuse, und zwar häufig schon 24 Std. nach der Fütterung derselben. Viel langsamer wuchsen sie aus dem Leibesinhalte. Aus an Unterleibstyphuskranken gefütterten Läusen gelang die Züchtung des Diplobacillus nicht, sie gelangen aber dem Autor aus dem Blute der Flecktyphuskranken, an denen die Läuse gefüttert worden waren, nicht aber aus dem Blute der Unterleibstyphuskranken.

Später haben Olitsky, Denzer und Husk (Med. Rec. 1917. 17. II.) von 5 Fleckfieberkranken erhaltenen infizierten Läusen in sämtlichen Fällen den Diplobacillus gezüchtet. Für Meerschweinchens waren die Kulturen virulent und in 1 Falle wurde der Diplobacillus in der Milz eines mit Fleckfieberläusen infizierten Meerschweinchens nachgewiesen.

Auch Nöller, Werner und Benzler haben die sogenannten Rickettsia aus den Läusen gezüchtet und ihre bakterielle Natur nachgewiesen, und auch ich konnte auf Endoplatten den Diplobacillus aus Flecktyphusläusen züchten.

Ricketts, der zuerst die bipolaren paarweise gelagerten Gebilde in Flecktyphusläusen beobachtet hat, betrachtete sie als Bakterien, und später bewiesen Ricketts und Wilder, daß diese Gebilde durch das Serum Flecktyphuskranker agglutiniert werden.

Die späteren sorgfältigen Untersuchungen von Nöller, Töpfer, Töpfer und Schüßler, Otto und Dietrich u. a. m. sowie auch diejenigen von da Rocha-Lima bestätigten nicht nur die Beobachtungen von Ricketts und Wilder, sondern bewiesen auch, daß die Rickettsien Tiere infizieren und bei denselben Immunkörper bilden, sowie auch die für den Flecktyphus spezifischen anatomischen Veränderungen der kleinsten Gefäße hervorufen.

Dasselbe ist auch bei spontan infizierten Menschen und bei mit Flecktyphusblut, mit dem Blute bzw. Organemulsionen von an Flecktyphus erkrankten Tieren oder mit Reinkultur des Diplobacillus infizierten Tieren der Fall. Da die Diplobazillen nicht nur aus dem Blute flecktyphuskranker Menschen und Tiere wie auch aus den Flecktyphusläusen in Reinkultur gezüchtet werden, sondern schon bei meinen ersten Untersuchungen (l. c. Bd. 71. S. 353) in Paraffinschnitten in den Zellen verschiedener Organe und Hautexantheme von mir und in den letzten Jahren auch von Kuczynski und Jaffe, Wolbach und Todd nachgewiesen werden konnten, ist man zu dem Schluß berechtigt, daß die von da Rocha-Lima in den Zellen des Läusedarmes nachgewiesenen und Rickettsia-Prowazeki genannten Gebilde mit dem Diplobacillus identisch sind.

Schon in meiner 1. ausführlichen Mitteilung (l. c. Bd. 71. S. 351) habe ich bezüglich der Ergebnisse der zahlreichen anderen Untersuchungen betont, daß bei aufmerksamer Prüfung der Schilderungen der Beobachtungen von den meisten Autoren kurze, paarweise liegende, durch einen Spalt voneinander getrennte Gebilde gefunden worden sind. Auch in den späteren zahlreichen Untersuchungen über die Aetiologie

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des Flecktyphus und in allen Mitteilungen, selbst in denen von Nicolle über die Filtrierbarkeit des Flecktyphuserregers und seine Invisibilität werden dieselben paarweise liegenden, bipolaren Gebilde beim Flecktyphus erwähnt; ihre Beziehung zur Aetiologie dieser Krankheit aber ist übersehen worden.

Die Behauptung einiger Autoren, daß der Diplobacillus ein regelmäßiger Begleiter des Flecktyphus sei, da durch die spezifischen, durch das Virus erzeugten Veränderungen der kleinsten Gefäße der Darm für die Bakterien durchlässig werde, ist nicht stichhaltig, da ein ähnlicher Bazillus mit den geschilderten Eigenschaften nicht aus dem Körper, geschweige denn aus dem Blute, bei verschiedenen anderen Krankheiten und auch Darmerkrankungen, nicht gezüchtet worden ist.

Zur Nachprüfung dieser Behauptungen habe ich wiederholt in gleicher Weise und auf denselben Nährböden wie beim Flecktyphus das Krankenblut bei verschiedenen Erkrankungen, hauptsächlich solcher, bei denen der Darm geschädigt wurde und Darmblutungen vorkommen, wie Dysenterie, Typhus abdominalis, Darmtuberkulose, außerdem auch bei Pneumonie, Malaria und Erysipelas untersucht. Dabei konnte ich 2mal den Eberthschen Bazillus, 3mal den Fränkelschen Diplococcus, 1mal einen Streptococcus, in 1 Fall von Darmtuberkulose den Proteus-Bazillus, in keinem einzigen Falle aber den Diplobacillus züchten. Auch diese Versuche beweisen also, daß der Diplobacillus nur aus dem Körper der Flecktyphuskranken regelmäßig gezüchtet werden kann.

Gegen die ätiologische Bedeutung des Diplobacillus wurde noch der Einwand erhoben, daß derselbe auch in nicht infizierten Läusen nachgewiesen und aus denselben gezüchtet werden konnte. Dies spricht aber ebensowenig gegen die ätiologische Bedeutung des Diplobacillus wie die zahlreichen säurefesten Stäbchen gegen die des Kochschen Bazillus für die Tuberkulose und Hansenschen Bazillus für die Lepra. Durch die Weil-Felixsche Reaktion, das vortreffliche Hilfsmittel zur Diagnose des Flecktyphus, wurde es gewiß, daß derselbe häufig nicht nur ohne Exanthem, sondern auch ganz leicht, ohne wahrnehmbare Erscheinungen verläuft. Hierdurch wurde auch erklärt, warum während einer Flecktyphusepidemie zahlreiche Individuen damit infiziert sein und daß keine ausgesprochenen Krankheitserscheinungen sich zeigen können. Zweifellos können an derartigen angeblich gesunden, aber in der Tat infizierten Individuen sich auch Läuse infizieren. Außer dieser Gelegenheit zum Eindringen des Diplobacillus in die „nicht infizierten" Läuse finden sich wohl auch verschiedene andere, da der Diplobacillus in gleicher Weise wie sämtliche anderen Krankheitserreger nicht nur im Körper des Kranken, sondern auch außerhalb desselben vorhanden sein muß.

Schon vor vielen Jahren wies ich darauf hin, „daß wir nur deshalb nicht sämtliche Krankheitserreger außerhalb des Organismus nachweisen können, weil sie hier, in anderem Milieu lebend, in einigen oder sämtlichen Eigenschaften mehr oder weniger stark verändert werden, was besonders häufig und schnell bei denjenigen Bakterien zur Geltung kommen muß, die keine Sporen bilden und deshalb weniger widerstandsfähig sind" [1]).

---

1) Ueber die Flecktyphusepid. in Kiew. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52. 1909.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Uhlenhuth und Zuelzer haben in ihren Vorträgen während der 8. Tagung der Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85) die ganz überraschende Tatsache mitgeteilt, daß selbst die verschiedensten sehr empfindlichen Spirochäten vom Typus Pallida, Recurrens, Icterogenes u. a. sehr weit in der Außenwelt verbreitet sind. „Es ist sehr wohl denkbar — sagte Uhlenhuth — daß unter Bedingungen, die wir nicht kennen, avirulente Stämme virulent werden können, denn alle pathogenen Mikroorganismen sind wohl ursprünglich aus Saprophyten hervorgegangen.“ Uhlenhuth weist auch bezüglich der Spirochaeta icterogenes darauf hin, wie ein derartiger Uebergang vom Saprophytismus zum Parasitismus vor sich gehen kann. Selbstverständlich ist das, was bei einem Krankheitserreger geschehen kann, auch für den andern gültig, und deshalb wird der Einwand gegen die ätiologische Bedeutung des Diplobacillus für den Flecktyphus von selbst hinfällig.

Wird aber der **Diplobacillus** ausschließlich aus flecktyphuskranken Menschen und Tieren gezüchtet und gelingt diese Züchtung beim Menschen in 82,4 Proz. der Fälle, wird er auch aus den Flecktyphusläusen, in deren Darm er systematisch nachgewiesen ist, gezüchtet, so steht er zweifellos in engem Zusammenhange mit der Krankheit, d. h. es muß der Flecktyphuserreger sein und er kann mit Recht **Diplobacillus exanthematicus** genannt werden.

II. Serologische Untersuchungen.

Wenn auch der praktische Wert der serologischen Reaktionen bei einigen Infektionskrankheiten allgemeine Anerkennung findet, so ist doch ihre Beweiskraft für die ätiologische Bedeutung eines Krankheitserregers durch die grundlegenden, von Weil und Felix festgestellten Tatsachen stark erschüttert worden. Was die Agglutination anbelangt, so ist schon die Tatsache, daß im Normalserum Agglutinine für die verschiedensten Bakterien, wenn auch in geringer Konzentration, nachweisbar sind, die strenge Spezifität der Agglutinine in Frage gestellt worden. Die Castellanische „Gruppenreaktion“ hat diese Bedenken noch verstärkt, und spätere Feststellungen zahlreicher Forscher haben zu weiterer Zergliederung des Agglutinationsbegriffes in Mit- und Paraagglutination geführt.

Nach der Entdeckung von Weil und Felix, durch die nachgewiesen ist, daß im Flecktyphuskrankenserum für den B. proteus X 19, der in keiner Beziehung zur Aetielogie der Krankheit steht, Agglutinine vorkommen, und zwar in einer Konzentration, wie sie bei keiner anderen Infektionskrankheit beobachtet wird, ist endlich die Spezifität der Agglutinine ganz in Abrede gestellt worden. Weil und Felix sind der Ansicht, daß der Flecktyphuserreger keine für ihn selbst angepaßte Antikörper bildet, sondern nur solche, die zufällig, aber spezifisch mit dem Proteus-Bazillus X 19 reagieren.

Die vergleichenden Agglutinationsversuche, die mit Infektions- (Flecktyphuskranken-) und Injektionssera (Kaninchenimmunserum) angestellt wurden, haben den Beweis geliefert, daß diese Sera nach mehreren Richtungen hin verschieden sind.

Alle diese und zahlreiche andere Tatsachen, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann, konnten nicht zu einem übereinstimmenden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

klaren Schluß führen, da es an entsprechenden Versuchen mit dem Flecktyphuserreger mangelte.

Das über die Agglutinationsversuche Gesagte gilt auch für die Komplementbindungsversuche.

Bei der Wassermannschen Reaktion, deren große praktische Bedeutung keinem Zweifel unterliegt, ist der Beweis erbracht worden, daß auch die Komplementbindung im Sinne der Ehrlichschen Seitenkettentheorie, nicht streng spezifisch ist. Dies haben die Versuche mit dem Proteus-Bazillus bestätigt.

Beide serologische Reaktionen, die Agglutination und Komplementbindung, die nicht bei allen Infektionskrankheiten anwendbar sind, können nur nach Erfüllung der Kochschen Triade zur Bestätigung der ätiologischen Bedeutung der entdeckten Krankheitserreger mit in Betracht gezogen werden. Ein derartiger Versuch ist auch vor vielen Jahren von mir und nachher von anderen Autoren, die den Diplobacillus gezüchtet haben, gemacht worden, konnte aber erst durch weitere Untersuchungen systematisch durchgeführt werden. Meine ersten 1908 ausgeführten Agglutinationsversuche zeigten, daß frisch gezüchtete Kulturen des Diplobacillus sich dazu nicht eignen, da derselbe auf künstlichen Nährböden in festen Kolonien wächst, die sich weder gleichmäßig suspendieren noch verreiben lassen.

Besser eignete sich dazu aber dieselbe Kultur des Diplobacillus nach längerer Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden, was ich damals auf Veränderung der biologischen Eigenschaften des Erregers zurückgeführt habe[1]). Aus Mangel an den nötigen Hilfsmitteln konnten damals die Komplementbindungsversuche nicht früher gemacht werden als 1912[2]). Trotz der geringen Zahl der untersuchten Fälle, die, von 1 Fall abgesehen, positive Resultate hatten, konnte auch bei diesen die Unbrauchbarkeit der frisch gezüchteten Kulturen für den Versuch festgestellt werden. Die kurz darauf von Fürth[3]) und nachher von P. Th. Müller[4]) angestellten Agglutinationsversuche mit den von ihnen gezüchteten Reinkulturen des Diplobacillus haben auch gezeigt, daß längere Zeit fortgezüchtete Kulturen zum Agglutinationsversuch sich besser eignen.

Im Serum von Kaninchen und Affen, die mit Reinkultur des Diplobacillus immunisiert wurden, konnte Fürth keine Agglutinine nachweisen.

Erst als es mir gelungen war, nach wiederholten Passagen von virulenten Diplobazillen durch Meerschweinchenkörper und künstliche Nährböden Kulturen derselben zu erhalten, die ein weicheres, schleimiges Wachstum zeigten[5]), habe ich meine systematischen serologischen Untersuchungen begonnen. Derartig modifizierte Kulturen des Diplobacillus ließen sich gleichmäßig suspendieren und haben stark trübe, wässerige Extrakte geliefert.

Hervorgehoben sei aber noch, daß auch aus derartig modifizierten Kulturen, je nach dem Stamm, Antigene verschiedener Wirksamkeit erhalten wurden; nicht selten hat dasselbe Flecktyphuskrankenserum mit den verschiedenen Antigenen verschiedene Resultate ergeben. Deshalb

1) Arch. f. Hyg. Bd. 71.
2) Dtsch. med. Wochenschr. 1912. Nr. 43.
3) Ztschr. f. Hyg. Bd. 70.
4) Arch. f. Hyg. Bd. 81. 1913.
5) Biologische Reaktionen — Agglutination und Komplementbindung — beim Flecktyphus. (Charkow. med. Journ. Bd. 21. 1915.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 5. Agglutinationsversuche.

Nr. der Reihe nach	Name	Alter	1. Untersuchung			2. Untersuchung			3. Untersuchung			Ergebnis des Komplementbindungsversuches mit demselben Serum
			Tag vor der Krisis	Tag nach der Krisis	Ergebnis	Tag vor der Krisis	Tag nach der Krisis	Ergebnis	Tag vor der Krisis	Tag nach der Krisis	Ergebnis	
1	Ba.	18	2	.	—	.	12	1:480	.	.	.	stark positiv
2	O.	32	1	.	—	.	6	1:240	.	13	1:80	negativ
3	Bo.	23	3	.	—	.	1	—	.	9	1:80	„
4	J.	27	.	9	—	.	.	.	.	.	.	„
5	Bi.	44	.	11	1:640	.	.	.	.	.	.	stark positiv
6	Ne.	20	3	.	—	.	6	1:240	.	.	.	positiv
7	No.	22	1	.	1:120	.	7	1:480	.	.	.	stark positiv
8	Wo.	18	4	.	—	.	5	1:360	.	.	.	positiv
9	Gr.	41	.	6	1:80	.	12	1:160	.	.	.	„
10	Gu.	29	4	.	—	.	7	1:360	.	16	1:240	„
11	Lu.	37	.	5	1:120	.	13	1:60	.	.	.	stark positiv
12	Ti.	20	2	.	—	.	5	1:640	.	29	1:120	dgl.
13	Ba.	20	1	.	1:40	.	7	1:160	.	13	1:160	„
14	Le.	30	2	.	—	.	6	1:80	.	12	1:320	„
15	Da.	39	1	.	1:480	.	9	1:720	.	.	.	„
16	Kr.	36	2	.	—	.	6	1:320	.	18	1:60	„
17	Ko.	42	2	.	—	.	7	1:120	.	13	1:160	„
18	Ji.	38	3	.	—	.	7	1:480	.	.	.	„
19	Li.	20	4	.	—	.	.	.	.	.	.	negativ
20	Do.	30	3	.	—	1	.	1:40	.	6	1:160	positiv
21	Ma.	30	3	.	—	.	9	1:320	.	.	.	stark positiv
22	Sa.	23	5	.	—	.	11	1:120	.	32	1:40	schwach positiv
23	Ma.	26	.	2	1:120	.	9	1:360	.	15	1:240	stark positiv
24	Sa.	18	6	.	—	3	.	—	.	10	1:320	positiv
25	We.	16	2	.	1:40	.	9	1:480	.	23	1:320	stark positiv
26	Do.	23	3	.	—	.	9	1:60	.	21	—	positiv
27	Ku.	19	.	10	1:160	.	.	.	.	.	.	schwach positiv
28	Up.	34	4	.	—	.	6	1:80	.	.	.	positiv
29	Ar.	29	2	.	—	.	8	1:40	.	.	.	negativ
30	Ga.	21	21	.	—	3	.	1:80	.	7	1:320	positiv
31	Pe.	18	.	3	1:360	.	10	1:360	.	.	.	stark positiv
32	Ul.	19	Krisis	.	—	.	8	—	.	19	—	negativ
33	Gl.	28	Krisis	.	1:80	.	10	1:640	.	.	.	positiv
34	Gl.	29	Krisis	.	—	.	10	1:160	.	.	.	„
35	Ko.	22	4	.	—	.	7	1:640	.	38	1:480	stark positiv
36	Gr.	17	.	5	1:640	.	19	1:320	.	36	1:80	dgl.
37	Sa.	20	4	.	—	.	6	1:720	.	.	.	„
38	Scha.	28	3	.	—	.	4	1:180	.	12	1:320	„
39	Zu.	29	1	.	1:80	.	8	1:640	.	17	1:480	„
40	Sche.	29	6	.	—	.	2	1:320	.	16	1:160	„
41	Lu.	22	2	.	—	.	5	1:160	.	.	.	„
42	Ku.	17	4	.	—	.	1	—	.	9	1:240	positiv
43	Lu.	17	2	.	—	.	3	—	.	.	.	negativ
44	Kr.	29	2	.	—	.	3	1:180	.	8	1:240	„
45	Scha.	27	3	.	—	.	5	1:640	.	13	1:480	stark positiv
46	En.	13	3	.	—	.	6	1:960	.	15	1:720	dgl.
47	Ma.	17	2	.	1:160	.	9	1:480	.	.	.	„
48	Sa.	23	.	4	1:360	.	.	.	.	.	.	„
49	Mo.	19	2	.	—	.	15	1:480	.	.	.	„
50	B.	19	2 Tage v. d. Tod.	.	—	.	.	.	.	.	.	negativ
51	Ap.	27	.	5	1:80	.	17	1:240	.	.	.	„
52	Ko.	50	.	3	1:360	.	11	1:80	.	.	.	positiv
53	Ka.	17	.	7	1:480	.	14	1:360	.	.	.	stark positiv
54	Ko.	23	.	4	1:120	.	.	.	.	.	.	positiv
55	Mo.	46	.	6	—	.	12	—	.	.	.	negativ
56	Ma.	32	.	6	1:320	.	15	1:180	.	.	.	stark positiv
57	Az.	19	.	3	1:80	.	10	1:120	.	18	1:80	dgl.
58	Bu.	29	.	7	1:180	.	14	1:160	.	.	.	„
59	Kr.	45	1	.	1:80	.	10	1:120	.	27	—	positiv
60	Bu.	22	Krisis	.	1:360	.	8	1:240	.	14	1:320	stark positiv
61	Kn.	28	.	9	1:160	.	25	1:40	.	.	.	dgl.
62	Os.	21	Krisis	.	1:60	.	8	1:160	.	.	.	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sind sämtliche Agglutinations- und Komplementbindungsversuche mit nicht weniger als 4 Antigenen angestellt worden, und als Agglutinogen wurden Kulturen des Diplobacillus von festem, meist Aszites-Agarnährboden benutzt. Die oberflächlich gewachsene Kultur wurde mit dem Kondenswasser abgeschwemmt und dann, je nach der Ueppigkeit des Wachstums, mit je 2—4 ccm physiol. Kochsalzlösung verdünnt.

In jedem Reagenzgläschen mit je 1 ccm des verdünnten Krankenserums, wie auch in die mit den verschiedenen Serumverdünnungen von anderen Kranken und gesunden Menschen und mit reiner physiol. Kochsalzlösung wurden mit einer Pipette 2—3 Tropfen der vorbereiteten Kulturaufschwemmung hinzugefügt. Nach kräftigem Schütteln wurden die Röhrchen auf 1 Std. in den Thermostaten bei 37° gebracht und nachher makroskopisch und mikroskopisch untersucht.

Um einen Ueberblick über das Verhalten der Immunstoffe im Serum in verschiedenen Krankheitsperioden zu gewinnen, wurden die Untersuchungen in jedem Falle nach Möglichkeit bis 3mal gemacht; ihre Ergebnisse zeigt Tab. 5.

Da während dieser Untersuchungen die Weil-Felixsche Reaktion noch nicht entdeckt worden war, so konnte diese Reaktion nicht mitberücksichtigt werden.

Tab. 5 zeigt, daß im ganzen die Blutsera von 62 Flecktyphuskranken untersucht wurden, und von diesen in 56 oder 90,3 Proz. Agglutination des Diplobacillus in Serumverdünnungen von 1:40—1:960 festgestellt wurde.

Von den 62 untersuchten Fällen ist das Blutserum in 7 je 1mal, in 27 je 2mal und in 28 je 3mal, im ganzen 145mal, untersucht und 99mal ein positives Resultat erhalten worden.

Das Ergebnis jedes Versuches stand mit der Krankheitsperiode, in der das Blut entnommen wurde, in engem Zusammenhange, denn von den 42 Versuchen mit im Paroxysmus entnommenen Krankenblute gaben 9 oder 21,4 Proz. positives Resultat; von 5 während der Krise entnommene 3 oder 60 Proz. und von den 98, für die das Blut in verschiedenen Perioden der Apyrexie entnommen wurde, haben 87 oder 88,8 Proz. positive Resultate gegeben.

Bemerkenswert ist auch, daß von den 9 positiven Ergebnissen mit aus dem Paroxysmus stammendem Blutserum das Blut 6mal 1 Tag, 2mal 2 Tage, und 1mal 3 Tage vor der Krisis vom Kranken entnommen worden ist. Dabei ist die Agglutination 3mal in Serumverdünnungen bis 1:40, 3mal bis 1:80, 1mal bis 1:120, 1mal bis 1:160 und 1mal bis 1:480 konstatiert worden.

Was die individuellen Besonderheiten anbetrifft, so konnten in Zusammenhang mit diesen ähnliche Schwankungen des Agglutinationstiters festgestellt werden.

Längere Zeit nach überstandener Krankheit Blut zu untersuchen, hatte ich nicht Gelegenheit. In 2 Fällen, bei denen es 36 resp. 38 Tage nach der Krisis untersucht wurde, zeigte sich eine Agglutination mit Serumverdünnungen 1:80 bzw. 1:480.

Die Agglutinine sind erst kurz vor der Krisis im Krankenblut erschienen, haben sich dort angehäuft und sind in kürzerer oder längerer Zeit nach der Krise allmählich verschwunden.

Vergleicht man die in Tab. 5 verzeichneten Ergebnisse der Agglutination mit den angegebenen Resultaten der Komplementbindung, die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 6. Komplementbindungsversuche.

Nr. d. Reihe nach	Name	Alter	1. Untersuchung				2. Untersuchueg				3. Untersuchung			
			Tag vor der Krisis	Tag nach der Krisis	Ergebnis mit aktiv. Serum	Ergebnis mit inakt. Serum	Tag vor der Krisis	Tag nach der Krisis	Ergebnis mit aktiv. Serum	Ergebnis mit inakt. Serum	Tag vor der Krisis	Tag nach der Krisis	Ergebnis mit aktiv. Serum	Ergebnis mit inakt. Serum
1	Ba.	18	2	.	+	±[1]	.	12	++	++	.	.	.	.
2	O.	32	1	.	—	—	.	6	—	—	.	13	—	—
3	Bo.	23	3	.	—	—	.	1	—	—	.	9	—	—
4	U.	27	.	9	—	—	.	.	.	.	.	.	.	.
5	Bi.	44	.	11	++	++	.	.	.	.	.	.	.	.
6	Ne.	20	3	.	±	—	.	6	+	+	.	.	.	.
7	No.	22	1	.	+	±	.	7	++	++	.	.	.	.
8	Wo.	18	4	.	—	—	.	5	++	+	.	.	.	.
9	Gr.	41	.	6	++	+	.	12	+	+	.	.	.	.
10	Gu.	29	4	.	—	—	.	7	+	+	.	16	++	+
11	Lu.	37	.	5	++	++	.	13	++	++	.	.	.	.
12	Ti.	20	2	.	—	—	.	5	++	++	.	29	+	±
13	Ba.	20	1	.	+	—	.	7	++	++	.	13	++	++
14	Le.	30	2	.	+	—	.	6	++	++	.	12	++	++
15	Da.	39	1	.	++	+	.	9	++	++	.	.	.	.
16	Kr.	36	2	.	±	—	.	6	++	++	.	18	++	+
17	Ko.	42	2	.	+	—	.	7	++	++	.	13	+	++
18	Ji.	38	3	.	+	±	.	7	++	++	.	.	.	.
19	Li.	20	4	.	—	—	.	.	.	.	.	.	.	.
20	Do.	30	3	.	—	—	1	.	—	±	.	6	+	+
21	Ma.	30	3	.	+	—	.	9	++	++	.	.	.	.
22	Sa.	23	5	.	—	—	.	11	+	±	.	32	—	—
23	Ma.	26	.	2	++	++	.	9	++	++	.	15	++	++
24	Sa.	18	6	.	—	—	3	.	—	—	.	10	++	+
25	We.	16	2	.	++	±	.	9	++	++	.	23	++	++
26	Do.	23	3	.	—	—	.	9	+	+	.	21	—	±
27	Ku.	19	.	10	+	±	.	.	.	.	.	.	.	.
28	Up.	34	4	.	—	—	.	6	+	+	.	17	—	±
29	Ar.	29	2	.	—	—	.	8	—	—	.	.	.	.
30	Ga.	21	21	.	—	—	3	.	+	?	.	7	++	+
31	Pe.	18	.	3	++	++	.	10	++	++	.	.	.	.
32	Ul.	19	Krisis	.	—	—	.	8	—	—	.	19	—	—
33	Gl.	28	Krisis	.	+	—	.	10	++	+	.	.	.	.
34	Gl.	29	Krisis	.	—	—	.	10	+	+	.	.	.	.
35	Ko.	22	4	.	—	—	.	7	++	++	.	38	++	++
36	Gr.	17	.	5	++	+	.	19	++	++	.	36	±	+
37	Sa.	20	4	.	—	—	.	6	++	++	.	.	.	.
38	Scha.	28	3	.	—	—	.	4	—	+	.	12	±	++
39	Zu.	29	1	.	++	+	.	8	++	++	.	17	++	+
40	Schl.	29	6	.	—	—	.	2	±	+	.	16	++	++
41	Lu.	22	2	.	+	—	.	5	++	++	.	.	.	.
42	Ku.	17	4	.	—	—	.	1	±	—	.	9	+	+
43	Lu.	17	2	.	?	—	.	3	—	—	.	.	.	.
44	Kr.	29	2	.	—	—	.	3	—	—	.	8	—	—
45	En.	13	3	.	+	—	.	6	++	++	.	15	++	++
46	Scha.	27	3	.	—	—	.	5	++	++	.	13	++	++
47	Ma.	17	2	.	+	±	.	9	++	++	.	.	.	.
48	Sa.	23	.	4	++	++	.	.	.	.	.	.	.	.
49	Mo.	19	2	.	±	—	.	15	++	++	.	.	.	.
50	B.	19	2 Tage vor dem Tode	.	—	—	.	.	.	.	.	.	.	.
51	Ap.	27	.	5	—	—	.	17	—	—	.	.	.	.

1) ++ = komplette Bindung; + = großer Niederschlag; ± = kleiner Niederschlag; — = komplette Hämolyse.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nr. d. Reihe nach	Name	Alter	1. Untersuchung				2. Untersuchung				3. Untersuchung			
			Tag vor der Krisis	Tag nach der Krisis	Ergebnis mit aktiv. Serum	Ergebnis mit inakt. Serum	Tag vor der Krisis	Tag nach der Krisis	Ergebnis mit aktiv. Serum	Ergebnis mit inakt. Serum	Tag vor der Krisis	Tag nach der Krisis	Ergebnis mit aktiv. Serum	Ergebnis mit inakt. Serum
52	Ko.	50	.	3	++	+	.	11	±	+	.	.	.	.
53	Ka.	17	.	7	++	++	.	14	++	++	.	.	.	.
54	Ko.	23	.	4	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.
55	Mo.	46	.	6	—	—	.	12	—	—	.	.	.	.
56	Ma.	32	.	6	++	++	.	15	+	++	.	.	.	.
57	Ar.	19	.	3	++	+	.	10	++	++	.	18	+	++
58	Bu.	29	.	7	+	++	.	14	+	++	.	.	.	.
59	Kr.	45	1	.	—	+	.	10	++	+	.	27	+	+
60	B.	22	Krisis	.	+	++	.	8	++	++	.	14	+	+
61	Kn.	28	.	9	++	++	.	25	+	+	.	.	.	.
62	Os.	21	Krisis	.	+	+	.	8	++	++	.	.	.	.

mit denselben Seris ausgeführt wurden, so sieht man, daß zwischen den Körpern, die Bakterien agglutinieren, und denjenigen, die Komplement binden, keine konstante Uebereinstimmung herrscht. Dies spricht wohl dafür, daß jede dieser Reaktionen durch spezielle Körper hervorgerufen wird.

Die Komplementbindungsreaktion wurde, wie schon erwähnt, jedesmal parallel der Agglutination mit jedem Blutserum und mehreren Antigenen aus denselben Diplobacillus-Kulturen angestellt, und zwar sind die Versuche jedesmal gleichzeitig mit „aktivem“ und „inaktiviertem“ Blutserum ausgeführt worden, da Beobachtungen gelehrt haben, daß das „aktive“, frisch erhaltene Serum nicht selten bessere Resultate liefert, und, wie Tab. 6 zeigt, in einigen Fällen nur mit dem „aktiven“ Serum ein positives Resultat erhalten worden ist.

Als Antigen wurden ausschließlich wässerige Extrakte aus Diplobacillus-Kulturen benutzt, da sich alkoholische, ätherische und Azeton-Extrakte als weniger brauchbar gezeigt haben. Die Antigenherstellung und die Ausführung der Versuche erfolgte folgendermaßen.

Mit jedem der 5 Stämme des Diplobacillus wurde eine Reihe von Aszites-Agarröhrchen geimpft und 24 Std. im Thermostaten gelassen. Die gewachsenen Kulturen wurden, je nach dem Wachstum, mit 3—5 ccm physiol. Kochsalzlösung abgeschwemmt, worauf sämtliche Kulturen eines Stammes in ein steriles Kölbchen zusammengegossen und 4mal 24 Std. im Thermostaten gelassen wurden. Während des Tages wurden die Kölbchen jede $^1/_2$ Std. mit der Hand kräftig geschüttelt. Am 5. Tage wurden dann die Kölbchen mit den mazerierten Kulturen in den elektrischen Schüttelapparat gebracht und 24 Std. geschüttelt, nachher in sterile Zentrifugengläschen gegossen und 5 Min. in der elektrischen Zentrifuge zentrifugiert. Die trüben, vom Niederschlag befreiten Extrakte wurden nach Zusatz von $^1/_4$ Proz. des Volumens der Karbolsäure, die vor dem Zusatz mit physiol. Kochsalzlösung verdünnt wurde, in Mengen von 0,05, 0,1 und 0,2 als Antigen zum Versuch benutzt.

Jedem Antigen wurden nach Ergänzung bis 1 ccm mit physiol. Kochsalzlösung je 0,1 bzw. 0,2 „aktiven“ resp. eine $^1/_2$ Std. bei 55° „inaktivierten“ Krankenserums und eine der Titration entsprechende Menge von Komplement zugefügt. Letzteres wurde jedesmal vor dem Versuch per se und mit jedem der benutzten Antigene austitriert. Die festgestellte Menge + 0,002 ccm des Komplementes wurden beim Versuch in jedes Röhrchen gegeben.

Nach Zusatz von bis 3 ccm physiol. Kochsalzlösung wurde jedes Reagenzgläschen geschüttelt, $^1/_2$ Std. bei Zimmertemperatur und $^3/_4$ Std. im Thermostaten gelassen, dann

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wurde in jedes Reagenzgläschen je 2 ccm des hämolytischen Systems zugesetzt und nach Schütteln 2 Std. im Thermostaten, 1 Std. bei Zimmertemp. und bis zum nächsten Morgen im Eisschrank gelassen.

Als hämolytisches System wurde eine 5-proz. Aufschwemmung von 3mal gewaschenen Hammelblutkörperchen und die 3-fache Titerdosis des entsprechenden Ambozeptors benutzt

Tab. 6 zeigt, daß bei der Untersuchung des Blutserums von den gleichen 62 Fecktyphuskranken in 52 oder 82,2 Proz. Komplementbindung erhalten wurde.

Bezüglich der Krankheitsperiode, in der das Blut von den Kranken zur Untersuchung entnommen wurde, gaben von 42 Versuchen mit im Paroxysmus entnommenem Blute 19 oder 45,2 Proz., von 5 bei der Krise gemachten 3 oder 60 Proz. und von den 98 Versuchen, für die das Blut in verschiedenen Perioden der Apyrexie von den Kranken erhalten wurde, 81 oder 82,7 Proz. positive Resultate. Von den erwähnten 19 positiven Resultaten mit während des Paroxysmus entnommenen Krankenseren kommen auf das Blut, das 6mal 1 Tag, 8mal 2 Tage und 5mal 3 Tage vor der Krisis von den Kranken entnommen worden war. Komplette Hemmung wurde verzeichnet: in 3 von 19 oder 15,8 Proz. der Fälle mit positivem Resultat im Paroxysmus, in 1 von 3 oder 33,3 Proz. der Fälle mit positivem Resultat während der Krisis und in 63 von 81 oder 77,8 Proz. der Fälle, die in verschiedenen Perioden der Apyrexie positive Komplementbindungsreaktion gezeigt haben.

Was die Wirkung der Inaktivierung des Serums auf das Ergebnis der Komplementbindungsreaktion anbelangt, so ist aus Tab. 6 zu ersehen, daß 22mal „aktives" Serum stärker reagiert, als „inaktiviertes", und in 12 Fällen die Reaktion überhaupt nur mit dem „aktiven" Serum zustande gekommen ist.

Andererseits wurde in 10 Fällen mit „inaktiviertem" Serum eine stärkere Reaktion erzielt und in 5 hat nur dieses Serum eine, wenn auch unbedeutende, Komplementbindung hervorgerufen.

In keinem einzigen der Kontrollversuche, die mit 48 Seris, darunter Normal- und Luessera, wie auch solche von an verschiedenen anderen Krankheiten Leidenden (Recurrens, Typhus abdominalis, Erysipelas, Pneumonia, Tuberculosis, Influenza, Echinococcus hepatis, Ulcus ventriculi, Carcinoma hepatis, Lupus, Eczema und Psoriasis vulgaris) konnte weder Agglutination des Diplobacillus, noch die Komplementbindungsreaktion mit Extrakten aus dem Diplobacillus konstatiert werden.

Kein einziges Mal wurde Agglutination und Komplementbindung mit Flecktyphusseren beobachtet, wenn bei den Versuchen verschiedene andere Bakterien (B. typhi, paratyphi A, paratyphi B, B. coli commune, Staphylococcus albus und aureus, Streptococcus, Diplococcus, B. subtilis und ein aus einem Rachenbelag gezüchtetes kleines, Gram-positives Stäbchen) und Extrakte aus denselben als Antigene benutzt wurden.

Besonders interessant ist auch, daß beide Streptococcus-Kulturen, die aus dem Blute von Flecktyphuskranken gleichzeitig mit dem Diplobacillus gezüchtet und als Antigen benutzt wurden, keine Reaktionen geliefert haben. Eine dieser Streptokokkenkulturen war aus dem Blute einer Kranken, die nach septischem Abort mit Flecktyphus infiziert worden war, die andere aus dem Blute eines Flecktyphuskranken, der an doppeltseitiger Streptokokken-Parotitis litt, gezüchtet worden. Es

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

folgt also aus diesen Ergebnissen der serologischen Untersuchungen, daß beide, die Agglutination und die Komplementbindung bedingenden Körper allmählich und ausschließlich im Verlaufe des Flecktyphus im Blute erscheinen, aber erst nach der Krisis sich stark anhäufen.

Dasselbe hat auch Olitsky[1]) bei seinen serologischen Versuchen mit den auf Plotzschen Nährböden gezüchteten Diplobazillen festgestellt.

Mit der mit den Seren von 72 Flecktyphuskranken angestellten Agglutination wurden folgende Ergebnisse erhalten: von 24 Fällen, in denen das Blut während des Paroxysmus zur Untersuchung von Kranken entnommen wurde, wurde in 8,3 Proz. positives Resultat konstatiert. Von 10 während der Krisis entnommenen Sera haben 7 oder 70 Proz. positiv reagiert und von 38 aus verschiedenen Perioden der Apyrexie 35 oder 92,1 Proz. positiv reagierendes Serum geliefert.

Auch Olitsky weist darauf hin, daß die Diplobazillen mit ihrem festen krümeligen Wachstum zum Agglutinationsversuch schlecht geeignet sind.

Die Komplementbindungsreaktion hat in Olitskys Versuchen folgende Ergebnisse geliefert: Von 25 während des Paroxysmus untersuchten Fällen war sie in 2 oder 8 Proz. positiv, in 10 während der Krisis untersuchten in 2 oder 20 Proz. und bei 39 in verschiedenen Perioden der Apyrexie untersuchten in 71,8 Proz. positiv. Die höchste Konzentration der komplementbindenden Körper beobachtete Olitsky zwischen dem 2. und 12. Tage und ihr Verschwinden in 1 Falle zwischen dem 30. und 39. Tage, und in dem anderen zwischen dem 64. und 160. Tage nach der Krisis. In allen 104 Kontrollversuchen waren beide Reaktionen negativ.

Aus den Ergebnissen der geschilderten serologischen Untersuchungen des Flecktyphusblutes, die von mir in Rußland ausgeführt wurden und den damit übereinstimmenden der Untersuchungen Olitskys in Amerika ergibt sich, daß es sich in beiden Fällen um ein und denselben, oben genau charakterisierten Diplobacillus gehandelt hat. Auch experimentell habe ich an Tieren dies beweisen können.

Später erhielt ich auch nach dem Plotzschen Verfahren gezüchtete Diplobazillen und habe mit diesen, wie auch mit den nach meinem Verfahren gezüchteten sowie wiederholt durch den Meerschweinchenkörper und künstliche Nährböden geschickten Diplobazillen Kaninchen immunisiert und mit den aus denselben erhaltenen Immunseris vergleichende serologische Untersuchungen angestellt:

Aufschwemmungen von diesen, nach meinem und dem Plotzschen Verfahren gezüchteten Diplobazillen wurden in Mengen von 0,1, 0,2 und 0,3 ccm Kaninchen in Abständen von 5 Tagen intravenös injiziert und am 9. Tage nach der letzten Impfung wurde das Immunserum entnommen. Mit verschiedenen Verdünnungen bzw. in Mengen von 0,05 und 0,1 ccm dieses Immunserums und denselben Kulturen als Antigen wurden Agglutinations- und Komplementbindungsversuche angestellt und außerdem wurde auch eine gut agglutinable Kultur von B. proteus X19 als Antigen benutzt.

1) Proceed. of New York Pathol. Soc. Vol. 15. 1915. Nr. 4.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tab. 7 zusammengestellt:

Tabelle 7.

Art des Kaninchenserums	Agglutination			Komplementbindung		
	D. Diplobac., gezüchtet nach Rabinowitsch	D. Diplobac., gezüchtet nach Plotz	D. Bac. proteus X19	Extrakt aus Diplobac. von Rabinowitsch	Extrakt aus Diplobac. von Plotz	Extrakt aus dem Proteus X19
Immunisiert mit nach Rabinowitsch gezüchteten Diplobazillen	1:320	1:40	1:160	+++[1])	+++	++
Immunisiert mit nach Plotz gezüchteten Diplobazillen	—	—	—	+++	+++	+
Normalserum von Kaninchen	—	—	—	—	—	—

Die in Tab. 7 zusammengestellten Versuche beweisen, daß sowohl die nach meinem Verfahren gezüchteten Diplobazillen als auch die nach Plotz isolierten, wenn Kaninchen injiziert, bei diesen die Bildung von Antikörpern hervorgerufen haben. Diese Antikörper haben im Agglutinations- und Komplementbindungsversuch nicht nur mit als Antigen benutzten Kultur des Diplobacillus, sondern auch mit der nach Plotz gezüchteten Kultur wie auch mit dem Bac. proteus X 19 positive Resultate ergeben. Dabei waren die komplementbindenden Körper bedeutend stärker ausgebildet als die agglutinierenden.

Bemerkenswert ist noch, daß die nach dem Plotzschen Verfahren gezüchtete Kultur des Diplobacillus bei immunisierten Kaninchen nur die Bildung von komplementbindenden Körpern hervorgerufen hat. Ob dies auf die Wirkung der Schwefelsäure im Plotzschen Nährboden zurückzuführen ist, konnte ich nicht entscheiden.

Jedenfalls liefern auch diese Versuche den Beweis, daß nach dem Plotzschen Verfahren aus dem Blute der Flecktyphuskranken isolierte Diplobazillen mit den nach meinem Verfahren gezüchteten identisch sind.

Die positiven, wenn auch schwächer ausgebildeten Reaktionen, die der B. proteus X 19 mit Kaninchenserum, das durch den Diplobacillus gebildet wurde, läßt sich durch eine Gruppenreaktion erklären.

Weil und Felix haben nachgewiesen, daß der Proteus-Bazillus sehr leicht in der Weise modifiziert, daß aus der sehr reichlich hauchförmig wachsenden, von ihnen als „H“ bezeichneten Form eine kümmerlich wachsende „O“-Form abgespaltet wird. Aehnlich wie die B. typhi, paratyphi A, paratyphi B, B. coli commune u. m. a. zu ein und derselben Typhus-Coli-Gruppe gehören, können vielleicht auch der Flecktyphuserreger, der Diplobacillus, in seinem saprophytischen Zustande zu der Proteus-Bazillengruppe gerechnet werden. Daß auch der Proteus-Bazillus durch die Immunkörper des Flecktyphuskranken stärker beeinflußt wird als der Krankheitserreger, darf nach den bei der

1) +++ = komplette Bindung; ++ = schwache Hämolyse und starker Niederschlag; + = starke Hämolyse, geringer Niederschlag; — = negativ.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Proteinkörpertherapie gemachten Erfahrungen nicht überraschen, und zeigt, daß noch eine andere Erklärung der von Weil und Felix festgestellten Eigenschaften des Proteus-Bazillus möglich ist. Da das parenteral einverleibte, heterogene Eiweiß verschiedene Infektionsprozesse günstig beeinflußt, kann diese Wirkung nicht durch die Bildung von Antikörpern im Sinne der Ehrlichschen Seitenkettentheorie erklärt werden.

Bezüglich der Bildung der Antikörper habe ich bei dem Versuche, einige bei der Febris recurrens beobachtete Erscheinungen zu erklären, schon vor 15 Jahren mich folgendermaßen geäußert:

„Die Antikörper werden nicht durch die Tätigkeit einer oder mehrerer Arten von Zellen erzeugt, sondern sind der Ausdruck einer bestimmten Wechselbeziehung zwischen sämtlichen Komponenten des Organismus, welche in den Körperflüssigkeiten sich abspiegelt“ [1]).

1 Jahr später kam ich bei der Schilderung einiger epidemiologischer Beobachtungen wieder auf diese Frage zurück und habe dabei darauf hingewiesen, daß „Die hemmende und neutralisierende Wirkung des Organismus auf die eindringenden Bakterien, bzw. ihre Toxine durch die Erzeugung eines neuen Milieus, d. h. einer entsprechenden Zusammensetzung der Körpersäfte bewirkt wird.

Diese Fähigkeit des Organismus, die Zusammensetzung seiner Körpersäfte, wenn nötig, zu verändern, wird dadurch ermöglicht, daß sämtliche ihn zusammensetzende Zellen und Zellkomplexe in beständiger Wechselwirkung miteinander stehen. Aendert sich diese Wechselwirkung, so wird auch die Tätigkeit der einzelnen Zellen und Zellkomplexe, die sich in den Körpersäften äußern, verändert, aber nur quantitativ.

Auf diese Weise kann der tierische Organismus aber nicht durch seine einzelnen Zellen und Zellkomplexe, sondern als Ganzes, jeder Schädlichkeit entsprechend, wenn eine bestimmte Grenze nicht überschritten wird, ein neutralisierendes Milieu erzeugen, in dem auch die Ursache der Immunität zu suchen ist“ [2]).

Bestätigt wird diese Auffassung durch die starke Wirkung der Störung der Funktionen von Drüsen mit innerer Sekretion auf den Gesamtorganismus. Es genügt wohl, auf die Akromegalie, Morbus Basedowi, Myxödem und Infantilismus hinzuweisen. Bemerkenswert ist noch, daß die Steigerung der Funktion einer bestimmten endokrinen Drüse ganz andere Störungen im Organismus hervorruft, als die Verminderung oder Ausfall derselben. Eine Veränderung der Funktion eines Organs in gewisser Richtung kann aber in gleicher Weise von verschiedenen Körpern hervorgerufen werden, und so ist es erklärlich, daß im Blute, in dem alle Vorgänge im Körper sich abspiegeln, dasselbe Milieu geschaffen wird.

Auf diese Weise erklärt es sich leicht, warum ein heterogenes Eiweiß verschiedene Infektionsprozesse in gleichem Sinne beeinflussen kann, wie auch die Ursache davon, daß die durch eine Bakterienart erzeugten Immunkörper auf die andere zufällig, wie Weil und Felix betont haben, noch stärker einwirken können.

Nun gibt aber der Diplobacillus, der beinahe immer nur aus dem Blute der Flecktyphuskranken und auch aus

1) Virchows Arch. Bd. 194. Beih.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

infizierten Läusen gezüchtet wurde, regelmäßig mit dem Krankenblute die serologischen Reaktionen: Agglutination und Komplementbindung.

Da auch das durch den Diplobacillus erzeugte Kaninchenimmunserum, ähnlich wie das Krankenserum, regelmäßig dieselben Reaktionen nicht nur mit dem Diplobazillus, sondern auch mit dem Bac. proteus X19 gibt, und da weiter die diese Reaktionen bestimmenden Körper regelmäßig kurz vor der Krisis nur im Krankenblute erscheinen, nach derselben sich anhäufen und dann allmählich verschwinden, so ist daraus zu schließen, daß der Diplobacillus in engem Zusammenhange mit dem Flecktyphus steht, d. h. der Flecktyphuserreger sein muß.

Die serologischen Kreuzversuche (Tab. 7), die mit nach meinem und dem Plotzschen Verfahren gezüchteten Kulturen des Diplobacillus angestellt wurden, beweisen aufs neue, daß die nach dem Plotzschen Verfahren gezüchteten bipolaren Stäbchen mit meinem Diplobacillus identisch sind.

III. Impfversuche an Meerschweinchen.

Die zahlreichen in den letzten Jahren beim experimentellen Flecktyphus gesammelten Erfahrungen haben erneut bewiesen, daß das Experiment nur eine rohe Nachahmung natürlicher Vorgänge ist.

Wird der Flecktyphus, wie von vielen Autoren behauptet wird, ausschließlich durch infizierte Läuse übertragen und ruft jeder Läusebiß ausnahmslos eine Erkrankung des Gebissenen an Flecktyphus hervor, so ist es doch sehr merkwürdig, daß im Experiment die Injektion kolossaler, im Vergleich zu den im Körper der vollgesaugten Laus befindlichen Mengen von Krankenblut in der Hälfte der Fälle erfolglos ist.

Sikora und Halberkam sowie auch Widmann haben berechnet, daß eine Laus bei der Fütterung jedesmal 0,3—0,8 mg Blut saugt. Von den sich in dieser Blutmenge befindenden Erregern kann aber, wenn es überhaupt möglich wäre, nur ein unbedeutender Teil beim Beißen eines Individuums einverleibt werden. Es müßten daher die vereinzelten dabei in Betracht kommenden Erreger ausnahmslos die Erkrankung hervorrufen, während bei den zahlreichen in Erzerum an Menschen ausgeführten Versuchen, bei denen gesunden Individuen 3—5 ccm Krankenblut injiziert wurden, nur die Hälfte an Flecktyphus erkrankte.

Unbegreiflich ist daher die selbst von erfahrenen Bakteriologen geäußerte Annahme, daß der experimentelle Flecktyphus beim Meerschweinchen regelmäßig ähnlich wie der beim Menschen verlaufen muß.

Sind doch die Bedingungen, welche der an den menschlichen Organismus angepaßte Flecktyphuserreger im Meerschweinchenkörper findet und die Lebensäußerungen des letzteren ganz andere; es müssen daher auch die Krankheitsprozesse beim Meerschweinchen anders als beim Menschen verlaufen. Ferner ist noch zu berücksichtigen, daß die experimentelle Infektion beim Tiere in verschiedenen Beziehungen sich von der natürlichen Infektion beim Menschen stark unterscheidet. Trotzdem entspricht der Krankheitsverlauf beim infizierten Meerschweinchen nicht selten dem beim Menschen, wie folgende von mir ausgeführte Versuche beweisen.

Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Schon 1908 habe ich (l. c.) zuerst den Beweis erbracht, daß Mäuse, Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen sowohl für die Impfung mit Krankenblut als auch für die mit dem aus demselben gezüchteten Diplobacillus empfänglich sind. Von den geimpften Tieren waren die Meerschweinchen besonders empfänglich und bei den mit Krankenblut geimpften Tieren wurden die Diplobazillen im Blut wie auch in den Organen nachgewiesen. Später habe ich dann noch bewiesen, daß auch ganz junge Ferkel für die Impfung mit Reinkultur des Diplobacillus empfänglich sind, und bei den geimpften Tieren ein starkes Hautexanthem hervorgerufen wird [1]).

Wegen Mangels an Tieren mußte ich mich damals mit einer kleinen Zahl von Versuchen begnügen und konnte zu den ausgedehnten systematischen Untersuchungen 1912 kommen.

Anfänglich habe ich bei diesen Versuchen Tiere benutzt, die von einem hiesigen Institute bezogen worden waren, erhielt aber damit keine übereinstimmenden und überzeugenden Ergebnisse, da die Tiere vorher schon zu anderen Versuchen benutzt worden waren.

Ich ließ mir daher später von ausländischen Züchtereien Tiere zusenden, an denen ich systematische Versuche anstellte.

Nach Feststellung der Empfänglichkeit der Meerschweinchen für den Flecktyphus versuchte ich durch neue systematische Impfversuche an diesen die ätiologische Bedeutung des Diplobacillus nachzuweisen. Zu diesem Zwecke wurden jedesmal Meerschweinchen mit dem Krankenblute und den daraus gezüchteten Reinkulturen des Diplobacillus parallel geimpft. Das Blut wurde mit Rekordspritze aus der Armvene des Kranken entnommen und 3—5 ccm sofort am Krankenbette zur Aussaat in Kölbchen mit je 100 ccm Glyzerin-Aszitesbouillon mit Organstückchen benutzt. In einigen Fällen wurden 5—6 ccm in Reagenzgläschen mit 2 ccm 1-proz. Natr. citricum-Lösung gespritzt, und in allen Fällen wurden von dem Reste des in der Spritze enthaltenen Blutes nach Ansetzen einer kleinen, stumpfen Nadel je 3—4 ccm 2 Meerschweinchen intraperitoneal injiziert.

Ferner wurde mit Natr. citricum verdünntes Blut im Laboratorium 2 anderen Meerschweinchen intraperitoneal einverleibt. Bei diesen Meerschweinchen wurde die Temperatur 2mal täglich in 7 Tagen vor der Infektion und nach derselben bis zur Krisis per rectum gemessen.

Um die Temperaturmessung richtig, d. h. jedesmal mit gleich tief eingeführtem Thermometer ausführen zu können, wurde nach wiederholten Vorprüfungen an der entsprechenden festgestellten Stelle desselben ein schützender Gummiring angesetzt. Zum Versuche wurden nur solche Tiere benutzt, die regelmäßig bei täglicher Messung im Laufe von 7 Tagen vor dem Versuche eine Temperatur unter 38° zeigten. Bemerkt sei noch, daß während der Versuchszeit keine spontanen Erkrankungen oder Epidemien beobachtet wurden und die Tiere sich vorzüglich vermehrt haben.

Um zu vermeiden, daß die Tiere mit den Diplobazillen Beimengungen vom Nährboden und in denselben ausgeschiedenen Stoffwechselprodukten bekamen, wurden zum Versuche ausschließlich in physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmte Kulturen von festen Nährböden benutzt. Die auf diese Weise hergestellten Aufschwemmungen wurden gewöhnlich intraperitoneal einverleibt, und nur wenn das Krankenblut und die aus

1) Arch. f. Hyg. Bd. 78.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

demselben gezüchteten Reinkulturen des Diplobacillus so virulent waren, daß minimale Dosen derselben bei intraperitonealer Einverleibung die Tiere akut töteten, habe ich subkutan injiziert.

Von den nach der Injektion von Krankenblut erkrankten Tieren wurde im Paroxysmus Herzblut entnommen und teils zur Aussaat auf Nährböden, teils zur Infektion neuer Meerschweinchen benutzt. Auch wurden aus dem Herzblute der erkrankten Meerschweinchen gezüchtete Reinkulturen des Diplobacillus in ähnlicher Weise neuen Meerschweinchen einverleibt.

Diese Versuche zeigten, daß sowohl das Flecktyphusblut als auch die daraus gezüchteten Diplobazillen für Meerschweinchen gleich virulent sind und bei nach der Infektion erkrankten Tieren eine Temperaturkurve zum Vorschein kommt, die der eines Flecktyphuskranken ähnlich ist. Aehnliche Temperaturkurven wurden auch bei Meerschweinchen beobachtet, die mit dem Herzblute von nach Infektion mit Fleckfieberkrankenblut erkrankten Meerschweinchen infiziert worden waren. Die aus demselben Herzblut gezüchteten Diplobazillenkulturen waren mit den aus dem Krankenblute gezüchteten ihrer Virulenz nach identisch.

Wiederholte Injektionen von Blut und Reinkulturen des Diplobacillus in Meerschweinchen, die die Krankheit überstanden hatten, blieben erfolglos, wenn der Zeitraum zwischen der 1. und 2. Injektion nicht zu groß war und wenn zur 2. Injektion Blut bzw. Kulturen des Diplobacillus benutzt wurden, die nicht viel virulenter waren als die bei der 1. Infektion benutzten. Unempfänglich für die 2. Injektion erwiesen sich beinahe alle Tiere, die mit einer auf 60° $^1/_2$ Std. lang erwärmten Kultur des Diplobacillus vakziniert wurden.

Schließlich wurden zur Feststellung der Wirkung des tierischen Organismus auf die Eigenschaften des Erregers einige Passageversuche mit Krankenblut und mit aus diesem gezüchteten Diplobazillen an Meerschweinchen in folgender Weise angestellt:

Von nach Infektion mit Krankenblut bzw. mit aus demselben gezüchteten Diplobacillus erkrankten Meerschweinchen wurde im Paroxysmus Herzblut entnommen und teils zur Aussaat, teils je 3–4 ccm zur intraperitonealen Injektion neuer Meerschweinchen benutzt.

Erkrankten diese Meerschweinchen, so wurde wiederum das Herzblut im Paroxysmus entnommen und in ähnlicher Weise verarbeitet usw.

Die Ergebnisse dieser Versuche haben keine deutlich ausgeprägten Ergebnisse geliefert, nur in einigen Fällen blieb die Virulenz scheinbar unverändert, in den anderen dagegen hat sie sich etwas verstärkt und in den 3. war sie nach wiederholter Passage deutlich verstärkt, verminderte sich aber nach weiteren Passagen wieder. Es ist daher anzunehmen, daß dabei die individuellen Besonderheiten der zum Versuche benutzten Tiere eine wichtige Rolle gespielt haben. Nur das Wachstum der Diplobazillen wurde in Kultur, und besonders den stark virulenten, nach wiederholten Passagen ein reichlicheres und weicheres, obgleich keine morphologischen Veränderungen dabei an denselben zu konstatieren waren. Im ganzen wurden zu den Versuchen das Blut von 24 Flecktyphuskranken und die aus denselben gezüchteten Reinkulturen des Diplobacillus benutzt.

Zur Aufklärung des Zusammenhangs zwischen dem Krankheitsverlaufe bei Flecktyphuskranken und den bei mit ihrem Blute oder aus demselben gezüchteten Diplobazillen infizierten Meerschweinchen wurden von mir Flecktyphuskranke mit verschieden intensiv verlaufenen Krank-

Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

heitsprozessen, von verschiedenem Alter und Geschlecht, wie auch von Mitgliedern einer Familie, die einander mit Flecktyphus infiziert hatten, ausgewählt.

Alle diese Versuche zeigten, daß der Diplobacillus der Flecktyphuserreger ist und durch seine Virulenz die Inkubationsdauer und die Intensität des Krankheitsverlaufes bei den Tieren bestimmt wird.

Weiter wurde durch diese Versuche klargelegt, daß bei den Ergebnissen derselben die individuelle Besonderheit des Tieres, die Menge des Impfstoffes und seine Applikationsart, eine bedeutende Rolle spielen, und daß auch in den Fällen, bei denen der Diplobacillus aus dem Krankenblute nicht gezüchtet werden konnte, derselbe aus dem Blute des Meerschweinchens, das mit diesem Blute geimpft worden war, in Reinkultur gezüchtet werden kann.

Von den im Laufe von Jahren an Tieren ausgeführten zahlreichen Versuchen können der Raumersparnis halber die Versuchsprotokolle nur ganz kurz wiedergegeben werden. Die Versuche sind nach der Zahl der Kranken, deren Blut zu den Versuchen benutzt wurde, in 24 Serien eingeteilt worden.

Eine Serie enthält alle Tierversuche mit dem Krankenblute und den aus demselben gezüchteten Reinkulturen des Diplobacillus, sowie mit dem Blute und der Reinkultur des Diplobacillus, die von mit Krankenblute geimpften Tieren gewonnen worden sind, also sämtliche Tierversuche, bei denen die Tiere mit einem von einem Flecktyphuskranken herrührenden Infektionsstoffe geimpft worden sind.

Die Versuchsprotokolle mit übereinstimmenden Ergebnissen sind in besondere Gruppen vereinigt und von diesen die wichtigeren vorausgeschickt worden:

1. Serie. Flecktyphuskranke Ko., 22 Jahre alt, leichter Krankheitsverlauf.

1. bakteriologische Blutuntersuchung am 4. Krankheitstage oder 11 Tage vor der Krisis. Ergebnis negativ. Zum 2. Mal wurde das Blut 4 Tage vor der Krisis entnommen, und zwar wurden 3 ccm zur Aussaat benutzt, je 3 ccm 2 Meerschweinchen (680 und 440 g) ip.[1]) injiziert und endlich 7,5 ccm Blut mit 2 ccm 1-proz. Lösung von Natr. citricum vermischt und auf 2 Meerschweinchen (390 und 325 g) ip. verimpft. 2 Meerschweinchen bekamen ip. je 1 ccm einer Aufschwemmung einer 24 Std. alten Kultur des Diplobacillus, die bei der 2. Aussaat aus dem Krankenblute gezüchtet wurde.

Beide Meerschweinchen, die mit Natr. citricum vermischtes Blut bekamen, wie auch beide mit je 1 ccm einer Aufschwemmung der Reinkultur des Diplobacillus geimpften sind im Laufe von 48 Std. nach der Infektion bei erhöhter Temperatur eingegangen.

Von den mit reinem Krankenblute geimpften stieg bei dem 680 g schweren nach 11-täg. Inkubationsdauer die T° bis 39,6°, blieb 4 Tage in derselben Höhe und das Tier erholte sich nach der Krisis schnell. Bei dem 440 g schweren Meerschweinchen trat der Paroxysmus nach 5-tägiger Inkubationsdauer ein, dauerte 9 Tage und während der Krisis starb das Tier bei einer T° von 35,8°.

Am 10. Tage der Infektion, oder am 5. des Paroxysmus, wurden beim letzten Meerschweinchen aus dem Herzen 8 ccm Blut entnommen und von diesem 5 ccm einem 505 g schweren Meerschweinchen ip. injiziert und 3 ccm zur Aussaat benutzt. Am Abend desselben Tages stieg die T° beim geimpften Tiere um 1,4°, in den nächsten 2 Tagen noch weiter und am 3. Tage ging das Meerschweinchen unter Temperatursturz ein.

1) ip. = intraperitoneal; sk. = subkutan; T° = Temperatur.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1 Tag vor der Krisis wurde demselben 440 g schweren Meerschweinchen zum 2. Mal aus dem Herzen 5 ccm Blut entnommen und einem 365 g schweren Meerschweinchen ip. injiziert, aber ohne jeden Erfolg. (Die T° wurde 45 Tage gemessen.)

Von der 24 Std. alten Reinkultur des Diplobacillus, die aus dem Herzblute desselben 440 g schweren Meerschweinchen gezüchtet[1]) worden war, wurden je 1 ccm der Aufschwemmung 2 Meerschweinchen (425 g und 290 g) ip. injiziert. Beim 290 g schweren Meerschweinchen stieg die T° am Abend bis 39,8°; es ging am nächsten Tage ein; beim 425 g schweren stieg die T° nach 24 Std. langer Inkubationsdauer, der Paroxysmus dauerte 13 Tage, am 14. begann die T° lytisch zu fallen, und am 18. Tage nach der Infektion ging das Tier ein. Nach der Infektion sahen die Tiere krank aus und hatten keine Freßlust, und haben unaufhörlich an Gewicht verloren.

Mit derselben Kultur, die im Laufe von 5 Tagen täglich auf künstliche Nährböden überimpft wurde, wurden 2 weitere, 435 g und 415 g schwere Meerschweinchen geimpft. Das 435 g schwere Tier bekam 0,5 ccm einer trüben Aufschwemmung ip. und erkrankte am 6. Tag nach der Infektion; der Paroxysmus dauerte 6 Tage; beim zweiten, 415 g schweren, in gleicher Weise geimpften Tiere dauerte die Inkubation 12 Tage und der Paroxysmus 5 Tage. Beide Tiere zeigten Gewichtsverlust, erholten sich aber beide.

Ein ähnlicher Krankheitsverlauf wurde bei den Meerschweinchen beobachtet, die mit einer Aufschwemmung einer im Laufe von 7 Tagen täglich überimpften, aus dem Krankenblute gezüchteten Kultur des Diplobacillus infiziert worden waren. Einem 460 g schweren Meerschweinchen wurden ip., dem zweiten, 445 g schweren, sk. je 0,5 einer trüben Aufschwemmung der Reinkultur einverleibt; das 1. erkrankte nach 7-täg. Inkubationszeit mit 6 Tage dauerndem Paroxysmus; beim 2. dauerte die Inkubationsperiode 18, und der Paroxysmus 4 Tage. Beide Tiere erholten sich.

Beide erwähnte Kulturen haben nach 4—5 Wochen dauernder Ueberimpfung auf künstlichen Nährböden ihre Virulenz ganz verloren, und selbst mit 1 ccm dichter Aufschwemmung ip. geimpfte Tiere erkrankten nicht, obgleich sie, wie wir sehen werden, einer 2. Infektion gegenüber widerstandsfähig geworden sind[2]).

Vergleicht man die Ergebnisse der geschilderten 1. Serie der Versuche an Meerschweinchen, die mit verschiedenem, aus denselben Flecktyphuskranken herrührendem Infektionsstoff ausgeführt wurden, miteinander, so zeigt sich, daß diese Versuchsergebnisse durch die Menge des Infektionsstoffes, seine Applikationsart, wie auch durch Alter und individuelle Besonderheiten der Versuchstiere bestimmt worden sind. Vergleicht man aber den Verlauf der Temperaturen bei den infizierten Tieren mit der Temperaturkurve der Flecktyphuskranken, so ergibt sich daraus ein ähnlicher Krankheitsverlauf beim Menschen und bei den Tieren.

Die Temperaturkurve des Meerschweinchens, dem das Krankenblut ip. injiziert worden ist, unterscheidet sich beinahe nicht von derjenigen der mit 0,5 einer Aufschwemmung aus dem Krankenblute gezüchteten Diplobacillus ip. infizierten Tieres, noch auch von derjenigen des Meerschweinchens, dem auch ip. 0,5 einer ähnlichen Aufschwemmung der Reinkultur des Diplobacillus, die aus dem Herzblute des mit Krankenblut geimpften Meerschweinchens gezüchtet worden war, einverleibt worden ist.

Aus den weiteren Temperaturkurven ergibt sich zur Evidenz, daß dieselbe Aufschwemmung der Reinkultur des Diplobacillus bei gleicher Applikationsart in größerer Menge eine stärkere Reaktion hervorruft; beim Meerschweinchen, dem 1 ccm der Aufschwemmung ip. injiziert wurde, dauerte die Inkubationsperiode 24 Std., der Paroxysmus 13 Tage; es ging ein. Beim 2. Meerschweinchen, dem ip. 0,5 ccm der-

1) Die bakteriologische Blutuntersuchung ist in der im 1. Teile geschilderten Weise ausgeführt worden.

2) Die Temperaturkurven konnten aus technischen Gründen nicht beigebracht werden. Red.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

selben Aufschwemmung einverleibt worden waren, dauerte die Inkubationsperiode 7, der Paroxysmus 6 Tage, das Tier erholte sich aber.

Andererseits sehen wir, daß von 2 Tieren, denen je 0,5 ccm einer und derselben Kulturaufschwemmung einverleibt wurde, bei einem Meerschweinchen nach intraperitonealer Injektion die Inkubationszeit 7 Tage, der Paroxysmus 6 Tage, beim 2. aber nach subkutaner Injektion die Inkubationsperiode 18, der Paroxysmus aber 4 Tage dauerte.

Was die Wirkung der Passage des Erregers durch den Tierkörper anbelangt, so konnte man auf Grund der kurzen Inkubationsperiode und des schnell eingetretenen Todes des Meerschweinchens, dem das Blut eines anderen, mit Krankenblut infizierten Tieres injiziert worden war, annehmen, daß die Virulenz des Erregers nach der Passage gestiegen ist.

Gegen einen derartigen Schluß spricht aber die Tatsache, daß die Reinkulturen, die direkt aus dem Krankenblute und nach der Passage durch ein Meerschweinchen erhalten worden waren, gleich virulent waren.

Weiter zeigen die geschilderten Versuche, daß bei den jüngeren Tieren die Inkubationszeit bedeutend kürzer ist und sie schneller zugrunde gehen, als die älteren. Dies berechtigt zu dem Schlusse, daß jüngere Tiere im allgemeinen der Flecktyphusinfektion gegenüber empfindlicher sind.

Endlich haben die Versuche gezeigt, daß im Laufe von 4—5 Wochen auf künstliche Nährböden überimpfte Kulturen des Erregers ihre Virulenz gänzlich verloren haben.

2. Serie. Flecktyphuskranker Gl., 28 Jahre alt. Schwerer Krankheitsverlauf.

8 Tage vor der Krisis war dem Kranken aus der Armvene Blut entnommen worden und von demselben waren 4 ccm zur Aussaat benutzt worden; je 3 ccm wurden 2 Meerschweinchen (610 und 480 g) ip. injiziert; die übrigen 6 ccm wurden zur Gerinnung gebracht und die ausgeschiedenen 3 ccm des Serums einem 480 g schweren Meerschweinchen ip. einverleibt. Beim 610 g schweren Meerschweinchen dauerte die Inkubationszeit 21, der Paroxysmus 3 Tage; beim 480 g schweren, mit Blut geimpften 14 bzw. 5 Tage und bei dem mit Serum geimpften Tier 3 und der Paroxysmus 5 Tage.

Am 3. Krankheitstage wurde dem 480 g schweren, mit Blut geimpften Meerschweinchen aus dem Herzen Blut entnommen und von diesem 4 ccm einem 500 g schweren Meerschweinchen ip. injiziert, die übrigen 4 ccm aber zur Aussaat verbraucht. Die Aussaat blieb steril. Beim geimpften Meerschweinchen stieg am Abend die T° bis 39,4° und blieb auf dieser Höhe, 40,6° erreichend, im Laufe von 8 Tagen. Aus dem am 5. Krankheitstage entnommenen Herzblute dieses Tieres konnte der Diplobacillus reingezüchtet werden, obgleich die Aussaat aus dem Blute, mit dem das Meerschweinchen geimpft worden war, wie erwähnt, steril blieb.

Von den Aufschwemmungen von Reinkulturen des Diplobacillus, der aus dem Krankenblute und aus dem Herzblute des letzterwähnten Meerschweinchens gezüchtet waren, wurden je 1 ccm 4 Meerschweinchen (495, 510, 525 und 475 g) ip. injiziert. Am Abend desselben Tages stieg bei sämtlichen Tieren die T° um 1,5—2°, und im Laufe der weiteren 24 Std. gingen sämtliche Tiere zugrunde.

Ferner wurden 4 weiteren Meerschweinchen je 0,3 ccm von Aufschwemmungen derselben Kulturen, die im Laufe von 5 Tagen an künstlichen Nährböden überimpft wurden, ip. injiziert. Bei dem 590 g schweren Meerschweinchen, dem eine aus dem Krankenblut isolierte Kultur injiziert wurde, dauerte die Inkubationszeit 15, der Paroxysmus 3 Tage, beim zweiten, 390 g schweren, mit derselben Kultur infizierten Meerschweinchen aber 10 bzw. 7 Tage.

Eine ähnliche Kurve erhielt man bei dem 410 g schweren Meerschweinchen, das mit 0,3 ccm einer Aufschwemmung einer vom Meerschweinchen gezüchteten Kultur infiziert worden war. Das zweite, 220 g schwere Meerschweinchen, dem dieselbe Menge derselben Kulturaufschwemmung einverleibt worden war, ging am nächsten Tage zugrunde.

Endlich wurde am 3. Krankheitstage aus dem Blute des mit Blutserum infizierten Meerschweinchens eine Reinkultur des Diplobacillus gezüchtet. 0,3 ccm einer Auf-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schwemmung aus derselben, einem 425 g schweren Meerschweinchen ip. injiziert, rief nach 8 Tagen eine 6 Tage dauernde Erkrankung hervor.

3. Serie. Flecktyphuskranke Gl., 29 Jahre alt, die Frau des vorigen Kranken (Serie 2). Der Krankheitsverlauf war bei der Pat. ein leichter.

Von dem der Kranken aus der Armvene 6 Tage vor der Krisis entnommenen Blute werden 4 ccm des Blutes zur Aussaat benutzt, je 3 ccm wurden 2 Meerschweinchen (465 und 490 g) ip. injiziert, die übrigen 7 ccm des Blutes ließ man in einem Reagenzglas gerinnen und die erhaltenen 3,5 ccm Serum wurden einem 440 g schweren Meerschweinchen ip. einverleibt. Beide mit dem Krankenblute infizierten Meerschweinchen lieferten ganz ähnliche Temperaturkurven, von denen eine wiedergegeben ist. Auch bei dem Meerschweinchen, dem das Blutserum einverleibt worden war, wurde eine typische Flecktyphuskurve beobachtet.

Viel stärker hat auf die Infektion das Meerschweinchen reagiert, dem ip. 4 ccm des Blutes injiziert wurden, das am 3. Tage des Paroxysmus aus dem Herzen des mit Krankenblut infizierten Meerschweinchens entnommen war: die Inkubationszeit dauerte 4, der Paroxysmus 11 Tage; am 25. Tage nach der Infektion ging das Tier ein.

Beide Meerschweinchen (410 und 445 g), die mit je 0,3 ccm einer Aufschwemmung der aus dem Krankenblute gezüchteter Reinkultur des Diplobacillus ip. geimpft waren, erkrankten nach einer Inkubationszeit von 9 bzw. 12 Tagen mit typischem Fieber. 2 anderen Meerschweinchen (475 und 710 g) wurden in die Bauchhöhle je 0,3 ccm einer Kulturaufschwemmung einverleibt, die am 3. Krankheitstage aus dem Herzblute eines mit Krankenblutserum infizierten Meerschweinchens gezüchtet worden war. Von diesen Tieren erkrankte das 475 g schwere am 8. Tage mit einem 7 Tage dauernden Paroxysmus, das zweite, 710 g schwer, in gleicher Weise geimpfte Tier blieb aber gesund.

Endlich erhielten 2 Meerschweinchen (535 und 560 g) je 0,3 ccm einer Aufschwemmung der Reinkultur des Diplobacillus, die am 5. Krankheitstage aus dem Herzblute des mit Krankenblut geimpften Meerschweinchens gezüchtet worden war, in die Bauchhöhle. Beide Tiere erkrankten nach 3 bzw. 1 Tage; die Temperatur schwankte bei ihnen zwischen 39,2° und 41° und beide starben am 6. bzw. 4. Krankheitstage an der Krankheit.

Die Versuche der 2. und 3. Serie sind von besonderem Interesse, da sie mit Infektionsmaterial ausgeführt worden sind, das von Ehegatten entnommen war, die einander infiziert hatten. Der klinische Verlauf der Krankheit war beim Gatten (Alkoholiker) ein bedeutend schwererer als bei seiner Frau, obgleich der Paroxysmus bei ihm nur 2 Tage länger dauerte.

Trotzdem waren, wie auch die beigefügten Kurven zeigen, das in beiden Fällen den Kranken während des Paroxysmus entnommene Blut und die aus demselben gezüchteten Reinkulturen des Diplobacillus im Tierversuch gleich virulent. Dies beweist wieder, daß in beiden Fällen die Infektion durch ein und denselben Diplobacillus-Stamm erfolgt war.

Trotzdem haben, wie aus den Versuchsprotokollen folgt, einige Tiere auf die Infektion stärker reagiert (kürzere Inkubationszeit, länger dauernder Paroxysmus und in einigen Fällen letaler Ausgang), die anderen schwächer, und 1 Tier hat auf die Infektion überhaupt nicht reagiert.

Berücksichtigt man aber, daß jedesmal mit dem Impfstoff in ganz gleicher Weise, d. h. mit gleichen Mengen ein und desselben Materials und an derselben Stelle, je 2 Meerschweinchen infiziert worden sind und trotzdem die Versuchsergebnisse keine übereinstimmenden waren, so müssen diese Verschiedenheiten der Ergebnisse auf das verschiedene Alter und die individuellen Besonderheiten der benutzten Tiere zurückgeführt werden.

Aus den geschilderten Parallelversuchen mit Krankenblut und Reinkulturen, die den Meerschweinchenkörper passiert haben, folgt, daß in beiden Fällen, d. h. im Blute wie auch in der Reinkultur, der Erreger bedeutend virulenter geworden ist, und zwar war der Diplobacillus

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nach aufeinanderfolgenden Passagen durch den Körper des Kranken und zweier Meerschweinchen besonders virulent geworden.

Weiter ergibt sich aus den geschilderten Versuchen mit ohne Zentrifugieren aus dem geronnenen Krankenblute ausgeschiedenem Serum, daß ein derartiges, aus dem paroxysmalen Krankenblute erhaltenes Serum für Meerschweinchen virulent ist, und aus dem Herzblute dieser nach der Infektion mit Serum erkrankter Tiere der Diplobacillus in Reinkultur gezüchtet werden kann.

Diese Versuche beweisen, daß die Behauptungen von Nicolle, Conor und Conseil (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 26), daß selbständig nach dem Gerinnen des Krankenblutes ausgeschiedenes Serum für Meerschweinchen nicht virulent ist, nicht zutreffend sind. Deshalb ist auch der von diesen Autoren weiter gezogene Schluß, daß der Flecktyphuserreger immer in den weißen Blutkörperchen eingeschlossen ist, nicht berechtigt.

Endlich muß noch die Tatsache hervorgehoben werden, daß aus dem Blute des mit Krankenblut geimpften Meerschweinchens der Diplobacillus in Reinkultur nicht gezüchtet werden konnte, trotzdem aber dieses Blut Meerschweinchen infiziert hat, und aus dem Herzblute der letzteren, das im Paroxysmus entnommen wurde, Reinkultur isoliert worden ist.

Diese sehr lehrreiche Beobachtung, die, wie wir sehen werden, wiederholt auch bei der Untersuchung des Krankenblutes wahrgenommen wurde, liefert den Beweis dafür, daß die negativen Ergebnisse der bakteriologischen Blutuntersuchung nicht gegen die Anwesenheit des Erregers in diesem Blute sprechen.

4. Serie. Flecktyphuskranker Ga., 21 Jahre alt, sehr schwerer Krankheitsverlauf.

Das Blut wurde dem Kranken aus der Armvene 21 Tage vor der Krisis entnommen und davon wurden 4 ccm zur Aussaat benutzt und je 3 ccm 2 Meerschweinchen (360 und 365 g) ip. injiziert. 1 Meerschweinchen (365 g) ging am Abend desselben Tages, das andere am nächsten Morgen ein. Beim letzteren war abends die Temperatur bis 41,6° gestiegen. 2 Tage später wurden dem Kranken wieder 20 ccm Blut aus der Armvene entnommen und $^1/_2$ Std. im Thermostaten bei 37° zum Gerinnen und $^1/_4$ Std. im Eisschrank gelassen.

Das ausgeschiedene Serum wurde dekantiert, kräftig geschüttelt und teils auf Meerschweinchen verimpft, teils durch Berkefeld-Kerze filtriert und das Filtrat zur Aussaat und Meerschweincheninfektion benutzt.

Von den 2 Meerschweinchen, die je 2 ccm des unfiltrierten Serums erhalten hatten, ging das 445 g schwere, intraperitoneal infizierte Tier am Abend desselben Tages ein, beim zweiten, 385 g schweren, subkutan geimpften Tier stieg, 10 Std. nach der Infektion, die T° bis 39,5, der Paroxysmus dauerte 19 Tage und am 20. Tage ging das Tier kurz nach der Krisis ein.

Aus dem am 8. Krankheitstage entnommenen Herzblute des letzten Meerschweinchens wurde der Diplobacillus in Reinkultur gezüchtet. 0,1 ccm einer Aufschwemmung dieser Kultur tötete ein 475 g schweres Meerschweinchen bei intraperitonealer Infektion in 30 Std.

Vom filtrierten Teile des Serums wurden je 3 ccm 2 Meerschweichen (395 und 405 g) ip. einverleibt, aber beide Tiere blieben gesund; die Aussaat desselben Serums blieb steril. Nach der Infektion mit dem filtrierten Serum stieg die Temperatur während 3—5 Tagen bis 38,2°–38,4° und bewegte sich dann im Laufe von 46 Tagen zwischen 37° und 38,2°. Das seit dem 3mal bei den Tieren aus dem Herzen entnommene Blut wurde teils zur Aussaat, teils zur Meerschweincheninfektion benutzt, aber immer waren die Aussaaten steril und die Tiere blieben gesund; bei keinem der infizierten Tiere stieg die Temperatur über 38,1°.

147 Tage nach der Infektion mit dem filtrierten Serum wurden beiden Meerschweinchen je 0,5 ccm der Aufschwemmung einer schwach virulenten, 24-stünd. Diplobacillus-Kultur ip. injiziert, worauf beide Tiere erkrankten: bei einem trat

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Paroxysmus nach 8 Tagen ein und dauerte 5 Tage; bei dem 2. folgte der 5-tägigen Inkubationsperiode ein 7-täg. Paroxysmus. Aus dem dem Kranken zum ersten Male entnommenen Blute wurde der Diplobacillus in Reinkultur gezüchtet und je 0,3 ccm der Kulturaufschwemmung wurden 2 Meerschweinchen ip. injiziert, worauf beide Tiere am Abend desselben Tages gestorben sind.

Am nächsten Tag wurden 2 Meerschweinchen (490 und 515 g) je 0,1 ccm der Kulturaufschwemmung ip. injiziert; die T° stieg abends bis 39,6° bzw. 40,2° und am nächsten Morgen wurden die Tiere tot aufgefunden.

Ferner wurden 2 Meerschweinchen (295 und 365 g) je 0,2 ccm der Aufschwemmung derselben Kultur subkutan injiziert. Die Temperatur stieg bei den Tieren abends bis 39,3 bzw. 40,4°, und das 295 g schwere Tier starb nach 2 Tagen; beim 2. (365 g) dauerte der Paroxysmus 11 Tage; es blieb am Leben.

Dem letzten Tiere wurde am 3. Tage des Paroxysmus aus dem Herzen Blut entnommen, 3 ccm desselben wurden zur Aussaat benutzt und je 2 ccm 2 Meerschweinchen (405 und 385 g) ip. injiziert. Abends stieg die Temperatur bei den Tieren bis 39,6° bzw. 39,2°; das 405 g schwere Tier erholte sich nach 15-täg. Paroxysmus wieder, wogegen das 2. am 10. Krankheitstag einging.

Endlich wurden mit 0,1 ccm einer Aufschwemmung der Reinkultur des gezüchteten Diplobazillus aus dem Herzblute desselben Meerschweinchens ip. 2 Meerschweinchen (315 und 335 g) infiziert. Beide Tiere erkrankten am Abend desselben Tages, das 335 g schwere starb am 4. Krankheitstage, das 2. erholte sich nach 10-täg. Paroxysmus. Das am 5. Krankheitstage dem letzten Meerschweinchen entnommene Blut und die aus demselben gezüchtete Reinkultur des Diplobacillus dienten als Impfstoff für 2 parallele Reihen von Passageversuchen, die weiter unten geschildert werden sollen.

5. Serie. Flecktyphuskranker Wl., 16 Jahre alt, sehr schwerer Krankheitsverlauf.

4 ccm des dem Kranken 18 Tage vor der Krisis entnommenen Blutes wurden zur Aussaat und je 3 ccm zur intraperitonealer Injektion zweier Meerschweinchen (395 und 525 g) verwendet. Bei dem 395 g schweren Tiere sank abends die T° bis 35,2°; es wurde am nächsten Morgen tot aufgefunden. Beim 2. Tiere sank die T° nach der Impfung bis 36°, stieg am nächsten Morgen bis 39,2° und am Abend desselben Tages starb das Tier. Das dem letzten Meerschweinchen bei 39,3° entnommene Herzblut wurde teils (3 ccm) zur Aussaat, die übrigen $4^1/_2$ ccm aber zur subkutanen Injektion bei 2 Meerschweinchen (360 und 515 g) benutzt. Das 360 g schwere erkrankte nach 24 Std. und ging nach 2mal 24 Std. ein; beim 2. 515 g schweren Tier dauerte die Inkubation 3, der Paroxysmus 4 Tage und am 5. Tag starb es in der Krisis bei Abfall der T° von 40,2°—35,6°. Am 4. Krankheitstage vom letzten Tier entnommenes Herzblut und die aus demselben gezüchtete Reinkultur des Diplobacillus wurden zu weiteren Tierpassagen, die weiter unten geschildert werden sollen, benutzt.

Mit den Reinkulturen des Diplobacillus, die aus dem Krankenblute und dem Herzblute des mit diesem Krankenblute geimpften Meerschweinchens gezüchtet wurden, wurden folgende parallele Tierversuche gemacht:

2 Meerschweinchen (470 und 490 g) bekamen je 0,2 ccm, 2 andere (460 und 510 g) je 0,1 ccm ip. und 2 (395 und 405 g) je 0,2 ccm sk. derselben Kulturaufschwemmung, die aus dem Krankenblute gezüchtet war. Sämtliche geimpften Tiere starben am nächsten Tage.

In ähnlicher Weise gingen im Laufe von 24 Std. nach der Infektion sämtliche 6 Meerschweinchen (530, 505, 495, 475, 455 und 435 g), die in entsprechender Weise mit aus Meerschweinchenblut gezüchteter Kultur des Diplobacillus geimpft wurden, ein.

Dann wurde dieselbe Kultur Meerschweinchen injiziert, die vor 12 bzw. 20 Tagen Flecktyphus überstanden hatten.

Einem 540 g schweren Meerschweinchen, das die Infektion mit Blut eines anderen Meerschweinchens überstanden hatte, wurde 1 ccm der Kulturaufschwemmung ip. injiziert, die aus dem Blute des Kranken der Serie 5 gezüchtet wurde. Nach der Injektion sank die T° beim infizierten Tier bis 35,4°, stieg, dann allmählich bis 40,4° und das Tier starb am 7. Tage nach der Infektion.

Einem zweiten, 480 g schweren Meerschweinchen, das auch den Flecktyphus überstanden hatte, wurden 1 ccm derselben Kulturaufschwemmung sk. injiziert; am Abend desselben Tages stieg die T° bis 40°, der Paroxysmus dauerte 28 Tage, und am 42. Tage nach der Infektion ging es ein.

Endlich bekamen 2 Meerschweinchen (415 und 445 g) in die Bauchhöhle je 1 ccm einer Aufschwemmung derselben Kultur des Diplobacillus, die 30 Min. auf 60° erwärmt worden war. Beide Tiere starben im Laufe von 24 Std.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Weniger virulent war eine 9 Tage vor der Krisis aus dem Blute desselben Kranken gezüchtete Kultur, und eine dritte 2 Tage vor der Krisis aus dem Blute desselben Kranken gezüchtete Kultur zeigte sich bei sk. Injektion von 0,5 ccm der Aufschwemmung bei einem 365 g schweren Meerschweinchen ganz avirulent.

Bei dem Meerschweinchen, das 0,5 ccm einer Aufschwemmung der Kultur bekam, die aus dem Krankenblute 9 Tage vor der Krisis gezüchtet worden war, dauerte der Paroxysmus 19 Tage; das Tier erholte sich.

135 Tage nach der Krisis wurde dem letzten Meerschweinchen ip 0,5 ccm der Aufschwemmung einer ähnlich virulenten Kultur injiziert, aber ohne Erfolg; das Tier blieb gesund.

6. Serie. Flecktyphuskranke El., 20 Jahre alt; Verlauf der Krankheit sehr schwer.

Das Blut wurde der Kranken 15 Tage vor der Krisis aus der Armvene entnommen und 4 ccm davon wurden zur Aussaat benutzt, je 3 ccm 2 Meerschweinchen (360 und 345 g) ip. injiziert; der Rest von 6 ccm wurde mit 2 ccm 1-proz. Natr. citricum-lösung vermischt, 2 Meerschweinchen (415 und 350 g) ip. injiziert.

Von den mit reinem Blute infizierten Tieren stieg bei dem 360 g schweren die T° am Abend bis 39,4°, sank am nächsten Tage bis 35°; es starb; das 2., 345 g schwere Meerschweinchen ging am 16. Krankheitstage ein.

Am 4., 10. und 14. Tage nach der Infektion wurde dem letzten Meerschweinchen Blut aus dem Herzen entnommen und jedesmal zur Aussaat und zur ip. Injektion von Meerschweinchen benutzt.

Nur aus dem am 14. Tage entnommenen Blute gelang die Reinkultur des Diplobacillus, und nur mit diesem Blute gelang es, ein 470 g schweres Meerschweinchen zu infizieren, das mit 22 Tage dauerndem Paroxysmus reagierte.

Von den Meerschweinchen, die mit Natr. citricum vermischtes Blut bekommen hatten, erkrankte das 435 g schwere nach 9-tägiger Inkubation mit 11 Tage dauerndem Paroxysmus, erholte sich aber; das 2., 350 g schwere erkrankte am 8. Tage nach der Infektion und starb am 3. Krankheitstage.

4 Meerschweinchen (480, 445, 425 und 405 g) bekamen intraperitoneal je 0,5 ccm der Aufschwemmung von Kulturen des Diplobacillus, die direkt aus dem Krankenblute bzw. nach Passage durch Meerschweinchen aus dem Herzblute der Tiere gezüchtet worden waren. Sämtliche wurden nach 24 Std. tot aufgefunden.

Dann wurden je 0,5 ccm der Aufschwemmungen derselben 24 Std. alten Kulturen 2 Meerschweinchen subkutan einverleibt. Das 405 g schwere, mit aus dem Krankenblute gezüchteter Kultur infizierte Tier erholte sich nach 21 Tagen dauerndem Paroxysmus, das 2., 435 g schwere, mit aus dem Herzblute des Meerschweinchens, das mit dem Krankenblute geimpft war, gezüchteter Kultur infizierte Tier starb am 10. Krankheitstage.

6 Tage vor der Krisis wurde der Kranken wieder aus der Armvene Blut entnommen und zur Aussaat, wie auch zu Tierversuchen benutzt: 1 Meerschweinchen (390 g) bekam ip. 3 ccm Krankenblut und erkrankte am 16. Tage nach der Infektion mit 6 Tage dauerndem Paroxysmus; ein 2. Meerschweinchen (365 g) erkrankte nach einer gleichen Infektion mit 3 ccm Blut am 17. Tage; der Paroxysmus dauerte bei ihm 8 Tage; beide Tiere erholten sich.

Aufschwemmungen der aus demselben Blute gezüchteten Diplobacillus-Kultur wurden in Mengen von je 0,5 ccm sk. 2 Meerschweinchen einverleibt, von denen eins (395 g) am 5. Tage nach der Infektion erkrankte, das 2. am 8.; der Paroxysmus dauerte beim 1. Tiere 7 Tage, beim 2. 10 Tage. Beide Meerschweinchen erholten sich.

Die in den Serien 4, 5 und 6 geschilderten Versuche sind einander sehr ähnlich, wie nach in dem sehr schweren Verlaufe der Krankheit bei den Patienten, deren Blut und die aus demselben gezüchteten Reinkulturen des Diplobacillus als Ausgangsmaterial für die Tierversuche dienten, und auch in der starken Reaktion der Tiere auf die Infektion mit diesem Material.

In sämtlichen Fällen war der Krankheitsverlauf bei den Patienten ein sehr schwerer und dauernder; sämtliche Kranke befanden sich im bewußtlosen Zustande, hatten Delirien und waren sehr unruhig; bei einem Kranken dauerte der Paroxysmus 24, beim 2. 25 Tage, und die 3. Kranke ist in bewußtlosem Zustande ins Krankenhaus eingeliefert

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

worden, so daß nicht ermittelt werden konnte, wie lange sie krank war; im Krankenhause dauerte bei ihr der Paroxysmus noch 15 Tage.

In ähnlicher Weise war auch bei den mit dem Blute dieser Kranken sowie mit den aus diesem Blute gezüchteten Kulturen des Diplobacillus geimpften Meerschweinchen der Krankheitsverlauf ein sehr schwerer: sämtliche intraperitoneal mit je 3 ccm Krankenblut oder mit 0,5—0,1 ccm einer Aufschwemmung der Kulturen, die aus diesem Blute gezüchtet wurden, Infizierte sind gestorben.

Aber dieselben, Blut und Reinkulturen, waren häufig bei sk. Injektion nicht imstande, die Tiere zu töten, haben aber eine schwere Erkrankung mit bis 28 Tage dauerndem Paroxysmus bei denselben hervorgerufen.

Die Versuche mit dem selbständig aus dem geronnenen Krankenblute ausgeschiedenen Serum haben gezeigt, daß das Serum ebenso virulent ist, wie das Vollblut, und daß aus dem Blute der mit diesem Serum infizierten Tiere eine gleiche virulente Kultur des Diplobacillus gezüchtet werden kann, wie aus dem Krankenblute.

Versuche mit demselben durch Berkefeld-Kerze filtrierten Blutserum beweisen, daß die Virulenz des Krankenblutes und seines Serums durch die in denselben vorhandenen Diplobazillen, die den Filter nicht passieren, bestimmt wird.

Wir haben gesehen, daß beide mit dem filtrierten Serum infizierte Meerschweinchen nicht erkrankten, 3mal bakteriologisch untersuchtes Herzblut dieser Tiere steril blieb und daß eine auf die nachträgliche Infektion mit 0,2 ccm einer Aufschwemmung der Diplobacillus-Reinkultur sie mit einer typischen Flecktyphuserkrankung reagierten.

Die unbedeutende Temperaturerhöhung, die bei diesen Meerschweinchen in den ersten 3—5 Tagen nach der Infektion mit dem filtrierten Serum beobachtet wurde, muß auf die Wirkung der Toxine zurückgeführt werden, wie daraus hervorgeht, daß im Tierversuche das wiederholt von denselben Kranken entnommene Blut verschieden virulent war.

Den theoretischen Erwägungen entsprechend, war das Blut, das dem Kranken im Anfange des Paroxysmus, wo die Antikörper sich noch nicht gebildet hatten, bedeutend toxischer, als das demselben Kranken näher der Krisis entnommene.

In ähnlicher Weise waren, wie aus den Versuchen der 5. und 6. Serie zu entnehmen ist, die Kulturen der Diplobazillen, die 18 bzw. 15 Tage vor der Krisis gezüchtet worden waren, sehr virulent. Die aus dem Blute desselben Kranken 9 bzw. 6 Tage vor der Krisis gezüchteten Kulturen waren aber weniger virulent und die 2 Tage vor der Krisis gezüchteten ganz avirulent.

Die durch diese Versuche festgestellten Tatsachen tragen zur Aufklärung der Wechselwirkung zwischen Krankheitserreger und dem befallenen Organismus bei.

Nachdem der in den Körper eingedrungene Erreger eine bedeutende Menge genügend starker Toxine ausgeschieden hat, beginnt die Reaktion des Organismus, die in der Temperatursteigerung und Bildung der Antikörper sich kundgibt.

Diese Wechselwirkung zwischen Erreger und befallenem Organismus beginnt um so schneller, d. h. die Inkubationsperiode ist um so kürzer, je virulenter der Erreger ist, und dauert um so länger, d. h. der Paroxysmus dauert um so länger, je langsamer die Bildung von Antikörpern vor sich geht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Haben aber die Antikörper sich in einer Menge gebildet, daß sie zur Neutralisation sämtlicher im Körper vorhandenen Erreger und ihrer Toxine ausreichen, so hört der Paroxysmus auf.

Das Ergebnis der Wechselwirkung zwischen dem Erreger und dem von ihm befallenen Tierkörper muß deshalb in direkter Abhängigkeit von den individuellen Besonderheiten des betreffenden Organismus und der Virulenz des Erregers stehen. Je virulenter der Erreger ist, desto größere Widerstandsfähigkeit besitzt er, und um so größer ist der Reiz, den er auf den Organismus ausübt Um so energischer ist aber auch die Reaktion des Organismus auf diesen Reiz, solange seine Widerstandsfähigkeit aus irgendwelchen Ursachen nicht abgeschwächt ist. Ist die Widerstandsfähigkeit nicht abgeschwächt, so beherrscht er den Erreger; seine Virulenz wird allmählich abgeschwächt, um am Ende des Paroxysmus ganz zu verschwinden; geschieht dies nicht, so hat der Krankheitserreger die Vorherrschaft und der Tierkörper muß zugrunde gehen.

Aus den Versuchen der 4., 5. und 6. Serie sehen wir wieder, daß mit denselben Mengen ein und desselben Impfstoffes infizierte Tiere von gleichem Gewicht verschieden auf die Injektion reagieren, daß jüngere Tiere der Infektion gegenüber empfänglicher sind als ältere, und daß endlich auf sämtliche Tiere größere Dosen des Infektionsstoffes und intraperitoneale Infektion stärker wirken.

Aus den Versuchen der 4. Serie folgt, daß das Krankenblut und die aus demselben gezüchtete Reinkultur nach der Passage durch das Meerschweinchen deutlich abgeschwächt werden. Dagegen muß aus ähnlichen Versuchen der 5. und 6. Serie der Schluß gezogen werden, daß Meerschweinchenpassagen die Virulenz des Krankenblutes und die aus demselben gezüchteten Diplobazillen nicht verändern.

Die Versuche der 5. Serie zeigen, daß Meerschweinchen, die den Flecktyphus überstanden haben, bedeutend widerstandsfähiger werden, selbst der intraperitonealen Injektion einer großen Menge (1 ccm) stark virulenter Kulturaufschwemmungen gegenüber, die andere Meerschweinchen auch bei subkutaner Injektion von 0,2 ccm der bei ip. Injektion von 0,1 ccm in 10—24 Std. tötete.

Endlich folgt aus den Versuchen derselben Serie noch, daß die Beimengung von Natr. citricum zwar die Virulenz des Krankenblutes etwas abschwächt, daß aber stark virulente Kulturen selbst nach $^1/_2$-stünd. Erwärmen bei 60° ihre Toxizität nicht verlieren.

7. Serie. Flecktyphuskranke Ka., 17 Jahre alt, Krankheitsverlauf sehr schwer.

Das Blut wurde vom Kranken 15 Tage vor der Krisis entnommen und 4 ccm davon wurden zur Aussaat, je 3 ccm 2 Meerschweinchen (345 und 360 g) ip. injiziert. Beide Tiere starben am Abend desselben Tages, die Aussaat aber blieb steril. 4 Tage später, also 11 Tage vor der Krisis, wurde dem Kranken wieder Blut entnommen, von dem 3 ccm zur Aussaat und je 2 ccm 2 Meerschweinchen (415 und 350 g) ip. injiziert wurden. Das 350 g schwere Meerschweinchen starb am nächsten Tage, beim 2., 450 g schweren Tiere trat der Paroxysmus am 4. Tage nach der Infektion ein und dauerte 12 Tage; das Tier starb am 18. Tage nach der Infektion.

Am 9. Krankheitstage wurde dem letzten Meerschweinchen aus dem Herzen Blut entnommen, von dem 4 ccm zur Aussaat und je 2 ccm 2 Meerschweinchen (365 und 335 g) ip. injiziert wurden. Bei beiden Tieren stieg die Temperatur am Abend desselben Tages um 1,8 bzw. 2° und das 365 g schwere Meerschweinchen starb am 5. Tage; beim 335 g schweren dauerte der Paroxysmus 13 Tage; es erholte sich.

Eine Aufschwemmung der aus dem Krankenblute gezüchteten Kultur wurden je 0,5 ccm 2 Meerschweinchen (470 und 455 g) und von der aus dem Herzblute des Meerschweinchens, das mit demselben Blute ip. infiziert worden war, gezüchteten Kultur

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wurden in ähnlicher Weise je 0,5 ccm ip. 2 anderen Meerschweinchen (490 und 460 g) injiziert.

Sämtliche Tiere erkrankten im Laufe von ca. 10 Std. nach der Infektion und der Paroxysmus dauerte bei denselben 10—15 Tage. 3 der Tiere erholten sich, aber 1 mit der aus dem Krankenblute gezüchteten Kultur geimpftes starb 42 Tage nach der Infektion.

Aus den Versuchen der 7. Serie ergibt sich, daß das Krankenblut für die Tiere sehr virulent war, und, in der Menge von 3 ccm ip. injiziert, diese akut tötete, daß dagegen die aus diesem Blute gezüchtete Reinkultur weniger virulent war, da 0,5 ccm der Aufschwemmung in gleicher Weise ip. einverleibt die Tiere nicht akut tötete, sondern bei denselben nur einen 10—15 Tage dauernden Paroxysmus hervorriefen, nach dem die Tiere sich erholten.

Diese Versuchsergebnisse zeigen, daß der schwere Krankheitsverlauf beim Flecktyphuskranken und die Toxizität seines Blutes im Anfange des Paroxysmus nicht nur durch die Virulenz des Erregers, sondern auch durch die individuellen Besonderheiten des erkrankten Organismus bestimmt werden können.

Bestätigt wird diese Annahme dadurch, daß das Blut des Meerschweinchens, das nach der Injektion mit Krankenblut an Flecktyphus erkrankte, weniger virulent war, als das Krankenblut, und daß die aus dem Herzblute desselben Tieres gezüchtete Kultur des Diplobacillus ebenso virulent war, wie die aus dem Krankenblute gezüchtete.

8. Serie. Flecktyphuskranker Do., 30 Jahre alt, schwerer Krankheitsverlauf.

Das Blut wurde dem Kranken 9 Tage vor der Krise entnommen, 4 ccm davon wurden zur Aussaat benutzt und 4 ccm einem 450 g schweren Meerschweinchen ip. injiziert. Nach 24 St. war die T° bis 39,6° gestiegen, bewegte sich 13 Tage zwischen 38,4 und 39,8° und am 14. Tage starb das Tier; es wog nach dem Tode nur 325 g.

Am 5. Krankheitstage wurde dem Meerschweinchen Herzblut entnommen, von dem 3 ccm zur Aussaat benutzt und 7 ccm 2 Meerschweinchen injiziert wurden. Einem 525 g schweren Meerschweinchen wurden 4 ccm, dem 2. (420 g) 3 ccm des Blutes ip. injiziert. Bei dem 525 g schweren Tiere begann der Paroxysmus am 6. Tage nach der Infektion; am 9. Tage starb es; beim 2. Tiere dauerte die Inkubationsperiode 15 Tage, der Paroxysmus 6 Tage, die T° stieg nicht über 39,1°; das Tier erholte sich.

Von einer Aufschwemmung einer aus dem Krankenblute gezüchteten Reinkultur wurden je 0,5 ccm 2 Meerschweinchen (435 und 455 g) ip. injiziert. Bei dem einen begann der Paroxysmus am 12. Tage nach der Infektion und dauerte 5 Tage; beim 2. begann es am 17. und dauerte 7 Tage. Beide Tiere erholten sich.

2 Meerschweinchen (385 und 405 g) bekamen ip. je 0,5 ccm einer Aufschwemmung der aus dem Herzblute des eben erwähnten gezüchteten Kultur. Das 385 g schwere erkrankte am 10. Tage nach der Infektion, der Paroxysmus dauerte 6 Tage; beim 2. 405 g schweren Tiere begann er am 9. und dauerte 7 Tage. Das 1. Tier erholte sich, das 2. starb unter starker Abmagerung am 46. Tage nach der Infektion.

Von der Aufschwemmung einer aus Krankenblut vor der Krise gezüchteten Kultur wurden je 0,5 ccm 2 Meerschweinchen (415 und 430 g) ip. injiziert; bei beiden stieg die T° im Laufe von 48 Tagen nicht über 37,8° und wiederholte Aussaaten von Herzblut blieben steril.

9. Serie. Flecktyphuskranke Bo., 23 Jahre alt, schwerer Krankheitsverlauf.

Das Blut wurde der Kranken 11 Tage vor der Krise aus der Armvene entnommen und 4 ccm desselben wurden zur Aussaat benutzt, je 3 ccm aber 2 Meerschweinchen (380 und 395 g) ip. injiziert. Die Aussaat blieb steril; von deu infizierten Tieren erkrankte das 380 g schwere am 9. Tage nach der Infektion mit 8 Tage dauerndem Paroxysmus; beim 2. Tiere stieg die T° nach 7-täg. Inkubationsperiode bis 40,2°, bewegte sich 3 Tage zwischen 39,2 und 40,2° und sank am 4. Tage bis 36,6°. Das 1. Meerschweinchen starb am 25. Tage nach der Infektion, das 2. erholte sich.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Beiden Tieren wurden am 2. Krankheitstage aus dem Herzen je 5 ccm Blut entnommen und zur Aussaat benutzt.

Aufschwemmungen der dabei gezüchteten Diplobazillenkulturen wurden zu je 0.5 ccm 2 Meerschweinchen (465 bzw. 480 g) ip. injiziert. Das 465 g schwere Tier erkrankte am 15. Tage nach der Infektion mit 6 Tage dauerndem Paroxysmus, das 2. überstand einen 9-täg. Flecktyphus, der nach einer 23 Tage dauernden Inkubationsperiode begonnen hatte.

Von einer Aufschwemmung einer aus dem Blute derselben Kranken 3 Tage vor der Krise gezüchteten Diplobazillenkultur wurden je 0,5 ccm ip. 2 Meerschweinchen (505 und 535 g) injiziert. 1 Meerschweinchen erkrankte nach 37 Tage dauernder Inkubationsperiode an 4-täg. Flecktyphus, beim 2. stieg die T° in 45 Tagen nicht über 37,7°. Am 2. Tage des Paroxysmus wurden dem erkrankten Meerschweinchen 5 ccm Blut aus dem Herzen entnommen und zur Aussaat benutzt, aus den Reinkulturen des Diplobacillus erhalten wurden.

10. Serie. Flecktyphuskranke Kr., 29 Jahre alt, schwerer Krankheitsverlauf.

Das Blut wurde der Kranken 8 Tage vor der Krise entnommen, 4 ccm wurden zur Aussaat benutzt und je 4 ccm 2 Meerschweinchen (445 und 475 g) ip. injiziert. Bei beiden Meerschweinchen ist die T° nach der Infektion 48 Tage lang gemessen worden; die höchste T° betrug 37,8 bzw. 38,1°.

Von einer Aufschwemmung einer aus dem Krankenblute gezüchteten Kultur des Diplobacillus wurden 2 Meerschweinchen (425 und 440 g) je 1 ccm und 2 Meerschweinchen (520 und 545 g) je 2 ccm ip. injiziert. Alle Tiere erkrankten nach einer Inkubationsperiode von 9—18 Tagen an einem 2—5 Tage dauerndem Flecktyphus, erholten sich nachher ganz.

Von derselben Kultur wurden nach täglicher Ueberimpfung künstliche Nährböden im Laufe von 2 Wochen je 2 ccm der Aufschwemmung 2 Meerschweinchen (370 und 395 g) ip. injiziert, doch ist bei keinem derselben die T° in 45 Tagen über 37,9° gestiegen.

Die Versuche der Serien 8, 9 und 10 lehren, daß, trotzdem bei allen drei Patienten die Krankheit schwer verlief und der Paroxysmus bis 3 Wochen dauerte, der entnommene Impfstoff (Blut und Kultur des Diplobacillus) viel weniger virulent war, als der gleiche Impfstoff von anderen Kranken mit analogem Krankenverlauf, der zu den oben geschilderten Versuchen der anderen Serien benutzt worden ist.

Sowohl nach der Injektion von Blut der Kranken und Tiere, die damit infiziert wurden, als auch nach der Infektion mit Reinkultur des Diplobacillus, die aus diesem Blute gezüchtet worden war, zeigten die infizierten Tiere kürzeren Paroxysmus nach längerer Inkubationsperiode (bis 37 Tage) und erholten sich meist nach der Krankheit.

In den Versuchen der 10. Serie war das Krankenblut für die Meerschweinchen ganz avirulent und die aus diesem gezüchtete Kultur des Diplobacillus erzeugte bei den ip. mit 1—2 ccm geimpften Meerschweinchen nach einer 9—18 Tage dauernden Inkubationsperiode einen 2—5-täg. Paroxysmus.

Sowohl die Dauer der Inkubationsperiode und des Paroxysmus, als auch der Ausgang der Infektion waren bei verschiedenen Tieren nach gleichartiger Infektion verschieden und in einem Falle erkrankte von den infizierten Tieren nur das eine, das 2. aber blieb gesund.

Die aus dem Krankenblute der 8. Serie 1 Tag vor der Krisis erhaltene Kultur des Diplobacillus und die aus dem Blute des Kranken der 9. Serie 3 Tage vor der Krise gezüchtete Kultur waren auch bei der ip. Injektion für Meerschweinchen ganz avirulent, obgleich am 9., bzw. 11. Tage vor der Krise aus dem Blute derselben Kranken gezüchtete Kulturen virulent waren.

Eine aus dem Krankenblute der 10. Serie gezüchtete Kultur des Diplobacillus verlor bei täglicher, 2 Wochen dauernder Ueber-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

impfung auf künstliche Nährböden ihre Virulenz für Meerschweinchen ganz.

Endlich sei noch die sehr interessante Tatsache hervorgehoben, daß es nicht gelang, aus dem Blute des Kranken der 9. Serie eine Diplobacillus-Kultur zu erhalten, wohl aber gelang es, eine solche aus dem Herzblute der mit diesem Blute geimpften Meerschweinchen zu züchten. Dies weist darauf hin, daß in dem am Anfange des Paroxysmus entnommenen Krankenblute irgendwelche das Wachstum des Diplobacillus auf künstlichen Nährböden hemmenden Stoffe vorhanden sind. Dafür spricht auch, daß das Krankenblut der 10. Serie für Meerschweinchen avirulent und die aus diesem Blute gewonnene Kultur des Diplobacillus virulent war.

Die Versuche der 8. Serie sprechen gegen eine Wirkung der Passage durch den Tierkörper auf die Virulenz des Erregers, die der 9. Serie aber für eine Steigerung der Virulenz nach der Passage.

11. Serie. Flecktyphuskranker Ku., 33 Jahre alt, Krankheitsverlauf sehr schwer.

Das Blut wurde dem Kranken 10 Tage vor der Krisis entnommen und 3 ccm wurden zur Aussaat benutzt, je 3,5 ccm wurden 2 Meerschweinchen (420 und 440 g) ip. injiziert. Bei einem Meerschweinchen (440 g) stieg die T° 19 Tage nach der Infektion bis 39,3° und der Paroxysmus dauerte 5 Tage; beim 2. Meerschweinchen stieg die T° in 41 Tagen nicht über 37,8° und zu dieser Zeit aus dem Herzen entnommenes Blut ergab bei der bakteriologischen Untersuchung ein negatives Resultat.

Beim ersten Meerschweinchen ist am 2. Tage des Paroxysmus aus dem Herzen Blut entnommen, und von demselben 3 ccm zur Aussaat und 4 ccm einem Meerschweinchen (450 g) injiziert worden.

Bei dem 460 g schweren Tiere dauerte die Inkubationszeit 5, der Paroxysmus 7 Tage, beim 2. Tiere 11 bzw. 3 Tage; beide Tiere erholten sich.

3 Tage vor seinem Tode wurde dem Kranken wieder Blut aus der Armvene entnommen und von diesem wurden 4 ccm zur Aussaat benutzt und je 3 ccm 2 Meerschweinchen (490 und 510 g) ip. injiziert. Beide Tiere starben gegen Abend desselben Tages.

Von einer Aufschwemmung der aus dem zum 2. Male entnommenen Blute gezüchteten Kultur des Diplobacillus wurden je 0,5 ccm 2 Meerschweinchen (545 und 565 g) ip. injiziert. Beide starben am Infektionstage.

Ferner wurden je 0,5 ccm einer Aufschwemmung derselben Kultur 2 Meerschweinchen (590 und 615 g) sk. injiziert. Am Abend desselben Tages stieg die T° bei beiden über 40° und 1 Tier (615 g) starb nach 2 Tagen, das 2. nach 5 Tagen.

12. Serie. Flecktyphuskranker Tsch., 43 Jahre alt, schwerer Krankheitsverlauf.

Von dem dem Kranken 5 Tage vor dem Tode aus der Armvene entnommenen Blute wurden 4 ccm zur Aussaat benutzt und je 3 ccm 2 Meerschweinchen (460 und 500 g) ip. injiziert; beide starben im Laufe desselben Tages.

Je 0,5 ccm der Aufschwemmung einer aus dem Krankenblute gezüchteten Kultur des Diplobacillus wurden 2 Meerschweinchen (550 und 565 g) ip. injiziert; beide starben an demselben Tage.

Weiter wurden je 0,5 ccm einer Aufschwemmung derselben Kultur 2 anderen Meerschweinchen (570 und 585 g) sk. injiziert. Bei beiden stieg abends die T° über 40° und 1 Meerschweinchen (570 g) ging nach 24 Std., das 2. nach 10-täg. Paroxysmus während der Krise unter Sturz der T° von 40,6° auf 35,4° ein.

Die Versuche der Serien 11 und 12 lehren, daß beide Flecktyphuskranke, deren Blut und die daraus gezüchtete Reinkultur des Diplobacillus zu den Versuchen benutzt worden war, gestorben sind, und daß sowohl das Blut dieser Kranken wie auch die aus demselben gezüchteten Kulturen des Diplobacillus verschieden virulent waren.

Besonders interessant ist aber die Tatsache, daß das Blut der Kranken der 11. Serie, das 10 Tage vor dessen Tode entnommen wurde, derart

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schwach virulent war, daß von 2 mit je 3,5 ccm desselben ip. infizierten Meerschweinchen nur 1 erkrankte und 7 Tage später, d. h. 3 Tage vor dem Tode demselben Kranken entnommenes Blut so stark virulent war, daß 3 ccm die ip. infizierte Tiere in einigen Stunden töteten.

Auch die Kultur aus dem zum 2. Male entnommenen Blute war bedeutend virulenter, als die aus dem Blute desselben Kranken zum 1. Mal, d. h. 7 Tage vorher, gezüchtete.

Diese Versuche bestätigen also die weiter oben geschilderten Erwägungen über die Wechselwirkung zwischen dem Krankheitserreger, dem infizierten Organismus und als Folge desselben den Krankheitsverlauf bei den Flecktyphuskranken.

In der 11. Serie erkrankte der Patient an Flecktyphus kurz nachdem er die Febris recurrens überstanden hatte, die seinen Körper stark erschöpft hatte und deshalb konnte er den schwach virulenten Flecktyphuserreger, der ihn infizierte, nicht bewältigen, d. h. er konnte nicht die zur Neutralisation des Erregers und seiner Stoffwechselprodukte nötigen Abwehrkörper bilden. Daher konnte der Erreger sich stark in dem Organismus vermehren sowie seine Virulenz verstärken und schnell durch seine Menge und Stoffwechselprodukte den geschwächten Körper töten.

Die Kultur des Erregers, der den Kranken der 12. Serie getötet hat, war aus seinem Blute 5 Tage vor dem Tode gezüchtet worden und war auch stark virulent; seine Virulenz im Anfange des Paroxysmus konnte nicht ermittelt werden.

Daß aber auch in diesem Falle die Ursache des letalen Ausganges der Krankheit hauptsächlich auf die schwache Widerstandsfähigkeit des befallenen Organismus und nicht ausschließlich auf die Virulenz des Erregers zurückzuführen ist, kann auf Grund der Versuche der 4., 5. und 6. Serie geschlossen werden.

Die aus dem Krankenblute jener Serien gezüchteten Erreger waren bedeutend virulenter, und doch konnten sie nicht die von ihnen befallenen Organismen bewältigen, sondern haben nur bei ihnen einen sehr schweren Krankheitsverlauf hervorgerufen. Es ist dabei noch hervorzuheben, daß in den Fällen der 4., 5. und 6. Serie die Patienten junge, 16, 20 bzw. 21 Jahre alte Individuen waren. Daß junge und besonders kindliche Organismen für den Flecktyphuserreger ein sehr ungünstiges Milieu sind, ergibt sich unter anderem aus dem leichteren Verlauf der Krankheit bei Kindern, worüber alle Autoren übereinstimmen. Ferner sprechen dafür auch folgende Versuche der Serien 13 und 14, die mit dem Blute von 2 flecktyphuskranken Kindern ausgeführt worden sind.

13. Serie. Flecktyphuskranke En., 13 Jahre alt, mit mittelschwerem Krankheitsverlauf.

Das Blut wurde 7 Tage vor der Krisis aus der Armvene entnommen und davon 4 ccm zur Aussaat benutzt, je 3 ccm Meerschweinchen (325 und 465 g) ip. injiziert. Die Aussaat blieb steril. Von den infizierten Meerschweinchen erkrankte das 325 g schwere, am 16. Tage nach der Infektion mit 6-täg. Paroxysmus, währenddessen die T° nicht über 39,2° gestiegen ist. Letztere betrug beim 2. Meerschweinchen während 45 Tagen nicht über 37,8°; das Tier blieb gesund.

Am 3. Tage des Paroxysmus wurde dem erkrankten Meerschweinchen aus dem Herzen Blut entnommen und von diesem 3 ccm zur Aussaat benutzt sowie je 3,5 ccm 2 Meerschweinchen (345 und 380 g) ip. injiziert.

Von den infizierten Tieren starb das 380 g schwere am 7. Tage des Paroxysmus, der nach 10-täg. Inkubationsperiode begonnen hatte: beim 2. Tier stieg die T° am 17. Tage nach der Infektion, und am 4. Krankheitstage starb es.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Von einer Aufschwemmung der aus dem Herzblute des Meerschweinchens gezüchteten Kultur wurden je 0,5 ccm 2 Meerschweinchen (405 und 430 g) ip. injiziert. Beide gingen am nächsten Tage ein. 3 Tage vor der Krise wurden dem Kranken wieder aus der Armvene 5 ccm Blut entnommen und zur Aussaat benutzt. Von einer Aufschwemmung der dabei gezüchteten Kultur wurden je 0,5 ccm 2 Meerschweinchen (390 und 385 g) ip. injiziert; beide blieben gesund.

14. Serie. Kranke Ti., 9 Jahre alt, mit sehr leichtem Krankheitsverlaufe.

Das Blut wurde der Kranken 5 Tage vor der Krise aus der Armvene entnommen und von demselben wurden 3 ccm zur Aussaat benutzt, auch wurden je 3 ccm 2 Meerschweinchen (315 und 345 g) injiziert. Die Aussaat blieb steril und die infizierten Tiere blieben gesund. 1 Tag vor der Krise wurden der Kranken wieder 6 ccm Blut entnommen, von dem 3 ccm zur Aussaat benutzt und 3 ccm einem 285 g schweren Meerschweinchen ip. injiziert wurden. Wieder blieb die Aussaat steril und das geimpfte Tier gesund.

Wir sehen also, daß in einem Falle das Blut des kranken Kindes im Anfange des Paroxysmus schwach virulent, das paroxysmale Blut des mit diesem Blute geimpften Meerschweinchens schon stark virulent und die aus demselben Meerschweinchenblute gezüchtete Kultur des Diplobacillus noch virulenter war und die infizierten Tiere am nächsten Tage nach der Infektion tötete. Dagegen war die aus dem Blute desselben Kranken am Ende des Paroxysmus gezüchtete Kultur ganz avirulent.

Im 2. Falle war das Blut des Kranken, das 5 und 1 Tag vor der Krisis entnommen wurde, ganz avirulent für Meerschweinchen; den Diplobacillus aus diesem Blute zu züchten, gelang nicht.

Aus den Versuchen der 13. Serie folgt also zur Evidenz, daß auch der stark virulente Erreger im Kindeskörper sehr schnell abgeschwächt wird und am Ende des Paroxysmus seine Virulenz ganz verliert.

Die Tatsache, daß der im Krankenblut abgeschwächte Erreger nach Passage durch den Meerschweinchenkörper so schnell wie in keinem der oben geschilderten Versuche wieder virulent wurde, spricht dafür, daß die Abschwächung der Virulenz des Erregers durch Antikörper bedingt wird, die im gesunden kindlichen Organismus vorhanden sind und im Verlaufe der Krankheit sich schnell anhäufen.

Die Versuche der 14. Serie beweisen außerdem, daß die Antikörper nicht nur die Virulenz des Erregers abschwächen, sondern auch seine Fähigkeit, sich auf künstlichen Nährböden zu vermehren.

Die Abschwächung der Vermehrungsfähigkeit des Diplobacillus auf künstlichen Nährböden wird, wie weiter nachgewiesen wird, nicht nur in den Flecktyphusfällen bei Kindern, sondern auch bei Erwachsenen beobachtet, bei denen die Krankheit einen leichten Verlauf nahm.

Die letzterwähnte Tatsache spricht auch dafür, daß der leichte Krankheitsverlauf bei Flecktyphuskranken nicht durch die schwache Virulenz des Erregers bedingt wird, sondern durch die starke Widerstandsfähigkeit des betreffenden Organismus, d. h. durch seine erhöhte Fähigkeit, Antikörper gegen den Flecktyphuserreger und seine Stoffwechselprodukte zu bilden.

15. Serie. Flecktyphuskranke Su., 22 Jahre alt, mit sehr leichtem Krankheitsverlaufe.

Das Blut wurde 7 Tage vor der Krise dem Kranken aus der Armvene entnommeu und 4 ccm desselben ausgesät, je 3 ccm 2 Meerschweinchen (335 und 360 g) ip. injiziert. Die Aussaat blieb steril und die T° stieg bei den geimpften Tieren im Laufe von 42 Tagen nicht über 37,7 °.

16. Serie. Flecktyphuskranker Su., 17 Jahre alt, der Bruder des vorigen Kranken, mit sehr leichtem Krankheitsverlaufe.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Blut war dem Kranken 2 Tage vor der Krisis aus der Armvene entnommen und von demselben waren 5 ccm zur Aussaat benutzt und je 3 ccm 2 Meerschweinchen (275 und 290 g) ip. injiziert. Die Aussaat blieb steril und bei den geimpften Tieren stieg die T° im Laufe von 42 Tagen nicht über 37,6 bzw. 37,9°.

In den letzten beiden Fällen war das Blut von beiden kranken Brüdern, die voneinander mit demselben Flecktyphusstamme infiziert worden waren, selbst für junge 275—360 g schwere Meerschweinchen völlig avirulent, so daß man vermuten konnte, daß es sich in diesen Fällen um einen schwach virulenten Erreger gehandelt hat. Gegen diese Vermutung spricht aber, daß 1) die Virulenz des Erregers eine genügende war, um 2 junge, kräftige Organismen zu infizieren; und 2) daß der Erreger die Wachstumsfähigkeit auf künstlichen Nährböden verloren hat. Die vorausgegangenen Versuche haben aber gezeigt, daß die Wachstumsfähigkeit bei schwach virulenten Diplobazillen erhalten bleibt.

Es ergibt sich daher aus den geschilderten Versuchen der 15. und 16. Serie, daß in beiden Fällen die jugendlichen Organismen der Kranken eine hohe Widerstandsfähigkeit besaßen und deshalb auf die Infektion mit schneller und intensiver Antikörperbildung reagiert haben, durch welche die Virulenz des Erregers für Meerschweinchen und seine Wachstumsfähigkeit auf künstlichen Nährböden stark abgeschwächt oder ganz vernichtet wurden.

Möglicherweise ist die eine dieser Eigenschaften, z. B. die Wachsumsfähigkeit, durch die Antikörper stärker beeinflußt worden als die andere.

17. Serie. Flecktyphuskranker O., 32 Jahre alt, mit leichtem Krankheitsverlaufe.

Von dem dem Kranken 6 Tage vor der Krisis aus der Armvene entnommenen Blute wurden 4 ccm zur Aussaat benutzt und je 3 ccm 2 Meerschweinchen (310 und 330 g) ip. injiziert. Die Aussaat blieb steril und die infizierten Tiere gesund. 1 Tag vor der Krisis wurden dem Kranken wieder 5 ccm Venenblut entnommen und zur Aussaat benutzt. Von einer Aufschwemmung der dabei gezüchteten Kultur wurden je 0,5 ccm 2 Meerschweinchen (345 und 370 g) injiziert; beide blieben gesund.

18. Serie. Flecktyphuskranke J., 27 Jahre alt, Krankheitsverlauf mittelschwer.

Das Blut wurde 5 Tage vor der Krise entnommen und davon sind 4 ccm zur Aussaat und je 3 ccm 2 Meerschweinchen (340 und 410 g) ip. injiziert worden; beide blieben gesund. Von einer Aufschwemmung einer aus dem Blute gezüchteten Reinkultur des Diplobacillus wurde je 1 ccm 2 Meerschweinchen (425 und 455 g) ip. injiziert. Bei dem 425 g schweren Tiere stieg 10 Tage nach der Infektion die T° bis 39,4°, betrug aber am nächsten Tage 37,8° und stieg nicht mehr über 38°. Das 2. Tier blieb gesund. Bei erhöhter T° wurde dem Meerschweinchen aus dem Herzen Blut entnommen und von demselben wurden 4 ccm ausgesät, die übrigen 3 ccm einem 415 g schweren Meerschweinchen injiziert. Die Aussaat blieb steril und das infizierte Tier gesund.

19. Serie. Flecktyphuskranker D., 23 Jahre alt, mittelschwerer Krankheitsverlauf.

Das Blut wurde dem Kranken 7 Tage vor der Krisis aus der Armvene entnommen und 4 ccm davon wurden zur Aussaat benutzt und je 3 ccm 2 Meerschweinchen (280 und 315) ip. injiziert. Die bakteriologische Untersuchung des Blutes war negativ, die geimpften Tiere blieben gesund.

2 Tage vor der Krise wurde dem Kranken wieder aus der Armvene Blut entnommen und davon 4 ccm ausgesät, 4 ccm einem 330 g schweren Meerschweinchen ip. injiziert. Die Aussaat lieferte eine Reinkultur des Diplobacillus; das infizierte Tier blieb gesund. Von einer Aufschwemmung einer bei der 2. Aussaat gezüchteten Kultur wurde je 1 ccm 2 Meerschweinchen (450 und 480 g) ip. injiziert; beide Tiere blieben gesund.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

20. Serie. Flecktyphuskranker Gr., 17 Jahre alt, mit leichtem Krankheitsverlaufe.

Das Blut wurde dem Kranken 8 Tage vor der Krisis aus der Armvene entnommen und davon wurden 4 ccm zur Aussaat benutzt, je 3 ccm 2 Meerschweinchen (475 und 510 g) in die Bauchhöhle injiziert. Die Aussaat blieb steril, die infizierten Tiere gesund.

21. Serie. Flecktyphuskranker Tsche., 50 Jahre alt, mit leichtem Krankheitsverlaufe.

Das Blut wurde dem Kranken 9 Tage vor der Krisis aus der Armvene entnommen und 4 ccm davon zur Aussaat benutzt, je 3 ccm 2 Meerschweinchen (375 und 360 g) ip. injiziert. Auch 4 Tage vor der Krise wurde wieder dem Kranken Blut entnommen und zur Aussaat und Infektion von Meerschweinchen (275 und 315 g) benutzt. Die Aussaat blieb steril, die infizierten Tiere gesund.

22. Serie. Flecktyphuskranker S., 23 Jahre alt, mit leichtem Krankheitsverlaufe.

Von dem dem Kranken 5 Tage vor der Krisis aus der Armvene entnommenem Blute wurden 4 ccm zur Aussaat benutzt und je 3 ccm Meerschweinchen (365 und 425 g) ip. injiziert. Die Aussaat blieb steril, die infizierten Tiere gesund.

Aus den Versuchen der letzten 6 Serien (17.—22.) ersieht man, daß bei 4 Kranken der Krankheitsverlauf leicht war, bei den übrigen 2 mittelschwer, aber in allen Fällen war das Krankenblut wie auch die aus demselben gezüchtete Kultur des Diplobacillus für Meerschweinchen ganz avirulent. Außerdem ist der Erreger in sämtlichen Fällen überhaupt auf künstlichen Nährböden gar nicht gewachsen.

Da in diesen Fällen die infizierten Tiere gesund blieben und die Kulturen nur in 3 von 6 Fällen und erst am Ende des Paroxysmus gezüchtet werden konnten, war es unmöglich, die Veränderungen der Eigenschaften des Erregers im Krankenorganismus unter der Wirkung der in demselben erschienenen Antikörper, wie dies zur Evidenz in einigen oben geschilderten Fällen nachgewiesen wurde, zu verfolgen.

Bedenkt man aber, daß auch in diesen Fällen sämtliche Kranke im Alter von 17—50 Jahren die Krankheit, wenn auch in leichter Form, überstanden haben, so kann man mit Sicherheit behaupten, daß der Erreger beim Eindringen in die Körper dieser Kranken wenigstens eine schwache Virulenz besitzen mußte und nur unter der Wirkung der Schutzkräfte des Organismus seine Virulenz ganz verloren hat.

Den Prozeß der allmählichen Abschwächung der Virulenz des Erregers im Krankenkörper zeigen die Versuche der letzten 2 Serien sehr deutlich.

23. Serie. Flecktyphuskranker Bn., 44 Jahre alt, mit leichtem Krankheitsverlaufe.

Das Blut wurde dem Kranken 5 Tage vor der Krisis aus der Armvene entnommen, 4 ccm davon wurden zur Aussaat benutzt und je 3 ccm 2 Meerschweinchen (325 und 470 g) ip. injiziert. Bei dem 325 g schweren Meerschweinchen dauerte die Inkubationsperiode 7 Tage, der Paroxysmus 6; das 2., 470 g schwere Meerschweinchen, erkrankte nach 12 Tagen mit 4-täg. Paroxysmus. Beide Tiere erholten sich.

Am 3. Tage des Paroxysmus wurde einem 325 g schweren Meerschweinchen aus dem Herzen Blut entnommen, von dem 3 ccm zur Aussaat verwendet und je 3 ccm 2 Meerschweinchen (455 und 495 g) ip. injiziert wurden. Beide Tiere erkrankten nach 2 bzw. 3-täg. Inkubationsperiode: bei 1 Tier dauerte der Paroxysmus 13, beim 2. 11 Tage. Beide Meerschweinchen erholten sich.

Von einer Aufschwemmung einer aus dem Krankenblute gezüchteten Kultur des Diplobacillus wurden je 0,5 ccm 2 Meerschweinchen (415 und 480 g) ip. injiziert. Bei beiden Tieren begann der Paroxysmus ca. 10 Std. nach der Infektion, das 415 g schwere Tier starb während der Krisis, die am 10. Tage des Paroxysmus eingetreten war; beim 2. Meerschweinchen sank die T° am 8. Krankheitstage und das Tier erholte sich.

Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Endlich wurden 2 Meerschweinchen (390 und 425 g) je 0,5 ccm einer Aufschwemmung der aus dem Herzblut des 325 g schweren, mit Krankenblut infizierten, Meerschweinchens gezüchteten Kultur des Diplobacillus ip. einverleibt.

Beide Meerschweinchen erkrankten an demselben Tage und 1 starb am 3., das 2. am 6. Tage des Paroxysmus.

24. Serie. Kranker Ba., 18 Jahre alt, mit mittelschwerem Krankheitsverlauf.

Von dem dem Kranken 8 Tage vor der Krisis entnommenen Blute wurden 4 ccm zur Aussaat benutzt und je 3 ccm 2 Meerschweinchen (345 und 395 g) ip. injiziert. Das 345 g schwere Tier erkrankte am 18. Tage nach der Infektion mit 7-täg., das 2. am 26. Tage mit 5-täg. Typhus. Beide Tiere erholten sich.

Dem 345 g schweren Meerschweinchen wurden am 3. Krankheitstage aus dem Herzen Blut entnommen, wovon 3,5 ccm zur Aussaat benutzt und je 3 ccm 2 Meerschweinchen (440 und 475 g) ip. injiziert wurden.

Eins der geimpften Meerschweinchen erkrankte am 6. Tage nach der Infektion, überstand einen 9-täg. Typhus und starb am 5. Tage nach der Krise; beim 2. Tiere dauerte die Inkubationsperiode 2, der Paroxysmus 7 Tage; es erholte sich.

Von einer aus dem Herzblute desselben Meerschweinchens gezüchteten Reinkultur des Diplobacillus hergestellten Aufschwemmung wurden je 0,5 ccm 2 Meerschweinchen (415 und 480 g) ip. injiziert. 1 Tier (415 g) erkrankte am 3., das 2. am 7. Tage nach der Infektion; beim 1. Tiere dauerte der Paroxysmus 13, beim 2. 11 Tage. Das 1. Tier erholte sich, das 2. starb am 25. Tage nach der Infektion.

5 Tage vor der Krisis wurde dem Kranken wieder Blut aus der Armvene entnommen, von dem 4 ccm zur Aussaat benutzt und je 3 ccm 2 Meerschweinchen ip. (305 und 325 g) injiziert wurden. Beide Tiere erkrankten nach einer 12—10-täg. Inkubationsperiode an 4 bzw. 3-täg. Typhus, erholten sich aber nach demselben.

Mit je 0,5 ccm einer Aufschwemmung der Kultur des Diplobacillus, die aus demselben Krankenblute (5 Tage vor der Krisis entnommen) gezüchtet war, wurden 2 Meerschweinchen (445 und 475 g) ip. infiziert. Die Tiere überstanden einen 3- bzw. 2-täg. Typhus nach 7- bzw. 9-täg. Inkubationsperiode. 2 Tage vor der Krisis wurde dann demselben Kranken zum 3. Mal aus der Armvene Blut entnommen, 4 ccm desselben zur Aussaat benutzt und je 3 ccm 2 Meerschweinchen (325 und 490 g) ip. injiziert. Beide blieben gesund.

Von einer Aufschwemmung der zuletzt gezüchteten Kultur des Diplobacillus wurden je 0,5 ccm 2 Meerschweinchen (375 und 405 g) ip. injiziert. Auch diese Tiere blieben gesund.

Die Versuche der letzten beiden Serien beweisen, daß auch bei hoher Virulenz des Krankheitserregers der Verlauf der Krankheit beim Pat. ein mittelschwerer oder sogar ein ganz leichter sein kann, was entweder durch die schwache Empfänglichkeit des befallenen Organismus für das Fleckfieber, oder durch schnelle Bildung von Antikörpern gegen den Flecktyphuserreger und seine Stoffwechselprodukte im befallenen Organismus erklärt werden kann.

Daß die wahrscheinliche Ursache des leichten Krankheitsverlaufes trotz der hohen Virulenz des die Krankheit erzeugenden Erregers gerade in der schnellen Bildung von Antikörpern zu suchen ist, folgt aus der Tatsache, daß das Krankenblut und die aus demselben gezüchtete Kultur des Diplobacillus schon nach einer Passage durch den Meerschweinchenkörper, bzw. den künstlichen Nährboden, bei der der Erreger von den Antikörpern befreit wird, bedeutend an Virulenz zunimmt. Aus den Versuchen der beiden letzten Serien folgt in der Tat, daß bei Meerschweinchen, die mit Blut von anderen, nach Einverleibung von Krankenblut oder aus demselben gezüchteter Reinkultur des Diplobacillus erkrankten Meerschweinchen infiziert wurden, die Inkubationsperiode bedeutend kürzer, der Paroxysmus dagegen länger, als bei den Meerschweinchen, die mit Krankenblut oder einer aus demselben gezüchteten Reinkultur geimpft worden sind. Einige der ersten Tiere starben an der Infektion.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Versuche der 24. Serie beweisen auch, daß von ein und demselben Kranken 8 Tage vor der Krisis entnommenes Blut für Meerschweinchen virulenter ist, als 5 Tage vor der Krisis von demselben Kranken entnommenes, und daß ferner 2 Tage vor der Krise bei diesen Kranken entnommenes Blut und die aus demselben gezüchtete Reinkultur des Diplobacillus ganz avirulent für Meerschweinchen waren.

Die Ergebnisse der letzterwähnten Versuche lassen sich nicht anders erklären, als durch allmähliche Abschwächung der Virulenz des Diplobacillus unter dauernder Wirkung allmählich sich anhäufender spezifischer Antikörper.

Andererseits sehen wir, daß nach der Infektion mit 8 Tage vor der Krisis entnommenem Krankenblute die Inkubationsperiode bei den infizierten Tieren 17 bzw. 26 Tage dauerte, während bei den mit 5 Tage vor der Krisis demselben Kranken entnommenem Blute geimpften Tiere die Inkubation 10 bzw. 12 Tage dauerte, was scheinbar der Behauptung, daß demselben Kranken später im Paroxysmus entnommenes Blut weniger virulent ist, widerspricht.

Dieser Widerspruch ist aber nur ein scheinbarer, denn 1) war bei den letzteren Tieren, trotzdem sie jünger waren und deshalb empfänglicher sein müßten, der Paroxysmus kürzer; 2) konnte die kürzere Dauer der Inkubationsperiode bei diesen Tieren dadurch bedingt werden, daß im Krankenblute, mit dem sie geimpft waren, das kürzer vor der Krisis entnommen war, wie gewöhnlich eine größere Zahl der Erreger sich befand.

Diese Erscheinung kann in der Weise erklärt werden, daß das Blut für den Krankheitserreger einen wenig zusagenden Nährboden darstellt, und die im Anfange des Paroxysmus in das Blut eindringenden Exemplare sich gar nicht oder sehr schwach vermehren.

Erst im weiteren Verlaufe der Krankheit, nachdem der Erreger sich den neuen Lebensbedingungen angepaßt hat, vermehrt er sich schnell, verliert aber unter der Einwirkung der im Krankenblute sich anhäufenden Antikörper allmählich seine Virulenz und geht endlich zugrunde.

Die oben geschilderten Versuche haben gezeigt, daß in den letzten Tagen des Paroxysmus aus dem Krankenblute gezüchtete Kulturen des Diplobacillus schwach virulent oder ganz avirulent waren, und aus den oben mitgeteilten bakteriologischen Untersuchungen des Blutes von 74 Flecktyphuskranken ist zu entnehmen, daß die Züchtung des Diplobacillus desto häufiger gelingt, je näher der Krisis das Blut zur Aussaat entnommen wird.

Die festgestellte Tatsache, daß der Erreger im Krankenblute bis zum Ende des Paroxysmus und manchmal sogar kurz nach der Krisis noch vorhanden ist, beweist andererseits die große Widerstandsfähigkeit des Diplobacillus den für ihn schädlichen spezifischen Antikörpern gegenüber.

Die letzte Erscheinung spricht dafür, daß die Immunität, die vom infizierten Organismus in diesem schweren Kampfe erreicht wird, eine dauernde sein muß, wofür ja auch die klinischen Beobachtungen, wie allgemein bekannt ist, sprechen.

Um festzustellen, ob Tiere, die den Flecktyphus überstanden haben, diesem Kontakt gegenüber immun werden, und wenn dieses der Fall ist, wie lange die Immunität anhält, habe ich entsprechende Versuche an Meerschweinchen, die den Flecktyphus überstanden haben, angestellt. Diese haben gezeigt, daß solche Tiere unter bestimmten Bedingungen anhaltend immun dieser Krankheit gegenüber werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Da ich schon a priori erwartet habe, daß bei den Meerschweinchen, die nach Infektion mit dem Blute von flecktyphuskranken Menschen und Meerschweinchen, oder mit aus denselben gezüchteter Reinkultur des Diplobacillus, den Flecktyphus überstanden haben, der wiederholten Infektion gegenüber ein gewisser Grad von Widerstandsfähigkeit zum Vorschein kommen muß, so habe ich zu diesen Versuchen das am meisten virulente Krankenblut, das für die Versuche der Serien 4, 5 und 12 benutzt wurde, und die aus demselben gezüchteten Reinkulturen des Diplobacillus verwendet.

Nur in einem Falle, und zwar bei den Meerschweinchen, die zum 1. Mal ohne Erfolg mit filtriertem Serum geimpft waren, wurde bei der 2. Impfung die weniger virulente, aus dem Blute des Kranken der 24. Serie gezüchtete Kultur einverleibt.

Bei den wiederholten Infektionen wurde das Blut den Tieren in Mengen von 2 bzw. 3 ccm und die Kulturaufschwemmungen in Mengen von 0,5 bzw. 1,0 ccm, gewöhnlich ip. und nur in einem Falle sk., injiziert.

Zu diesen wiederholten Infektionen wurden immer frisch gezüchtete Kulturen des Diplobacillus, und zwar 24-stünd., im Laufe der 1. Woche nach der Isolierung aus dem Blute, benutzt. Nach der Infektion wurde bei den Tieren die T° 2mal täglich per rectum in der oben angegebenen Weise gemessen und 1 mal täglich wurde das Gewicht der Tiere bestimmt (Tab. 8).

Faßt man die Ergebnisse der geschilderten Impfversuche an Meerschweinchen mit verschiedenen Infektionsstoffen kurz zusammen, so sehen wir, daß von den 210 Meerschweinchen, die zum 1. Male infiziert worden waren, 151 an Flecktyphus erkrankten und 59 gesund blieben.

Schließt man aber von den letzten 59 Tieren, die mit sterilem filtrierten Serum und während der Inkubationsperiode entnommenem Blute, wie auch mit älteren, avirulenten Kulturen des Diplobacillus geimpft worden sind, aus, so bleiben 40 Meerschweinchen, oder 19 Proz. sämtlicher infizierter Tiere, die ein negatives Resultat geliefert haben.

Von den nach der Infektion erkrankten Tieren haben 63 Meerschweinchen sich erholt und 88 oder 58,3 Proz. sind zugrunde gegangen. Von den letzteren sind 49 Meerschweinchen im Laufe der ersten 24 Std. nach der Infektion, 24 im weiteren Verlaufe des Paroxysmus, 4 während der Krise und 11 nach derselben eingegangen.

Schließt man ferner von der Zahl der eingegangenen Tiere diejenigen aus, die mit großen Mengen von stark virulentem Impfstoffe infizierten Meerschweinchen aus, so sind im ganzen nur ca. 10 Proz. der infizierten Tiere an der Infektion gestorben, trotzdem dazu, wie aus der vorausgegangenen Schilderung folgt, hauptsächlich stark virulenter Impfstoff benutzt worden ist.

Von den zum 1. Male infizierten Tieren sind 69 Meerschweinchen meist nach der Infektion mit Blut von flecktyphuskranken Menschen und Tieren, bzw. aus denselben gezüchteten Reinkulturen des Diplobacillus erkrankt, teils gesund gebliebenen, zum 2. Mal mit Krankenblut bzw. aus demselben gezüchteten Reinkulturen des Diplobacillus infiziert worden.

Aus den Ergebnissen der in Tab. 8 zusammengestellten Versuchen folgt zur Evidenz, daß Meerschweinchen, die den Flecktyphus überstanden haben, für eine neue Infektion, sei es mit stark virulentem Krankenblute, sei es mit aus demselben gezüchteten Reinkulturen des Diplo-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 8.
Wiederholt infizierte Meerschweinchen.

Nr. der Reihe nach.	Gewicht der Meerschweinch. i. Gramm	Mit welchem Material ist die Infektion zum 1. Mal ausgeführt worden?	Mit welchem Material ist das Tier zum 2. Mal infiziert worden?	Zwischenzeit[1]) der 1. u. 2. Infekt. in Tgn.	Dauer des Paroxysmus nach d. 1. Infekt.	Dose des Infektionsstoffes in Kubikzent.	Applikationsart.	Dauer der Inkubationszeit.	Dauer des Paroxysmus.	Höchste Temperatur.	Versuchsergebnisse.
					Tage						
1	590	Kultur v. Meerschw.	Kultur v. Kr., 12. Ser.	147	6	0,5	ip.	—	—	38,2	gesund
2	610	dgl.	dgl.	153	5	„	„	—	—	38,0	„
3	595	Kultur v. Kr., 1. Ser.	„	149	6	„	„	—	—	38,3	„
4	570	dgl.	„	158	4	„	„	—	—	38,1	„
5	560	„	„	142	—	„	„	21 Tag.	2 Tag.	40,9	erholte sich
6	605	Kultur v. Meerschw.	„	133	—	„	„	11 „	3 „	40,5	dgl.
7	540	Blut v. Krank., 2. Ser.	Kultur v. Kr., 5. Ser.	12	3	1,0	„	3 „	—	40,9	† am 7. Tage nach der Infektion
8	480	dgl.	dgl.	20	5	„	sk.	10 Std.	28 Tag.	40,7	† am 42. Tage nach der Infektion
9	590	Blutserum, 2. Ser.	„	32	5	0,5	ip.	—	—	38,4	gesund
10	570	Meerschweinchenblut	„	21	7	„	„	—	—	38,6	„
11	610	Kultur von Kranken	„	14	3	„	„	—	—	39,1	„
12	475	dgl.	„	17	7	„	„	—	—	38,9	„
13	535	Kultur v. Meerschw.	„	31	6	„	„	—	—	38,2	„
14	525	Blut v. Krank., 3. Ser.	„	24	5	„	„	—	—	38,0	„
15	585	dgl.	„	23	6	„	„	—	—	38,6	„
16	495	Blutserum, 3. Ser.	„	18	6	„	„	—	—	37,9	„
17	485	Kultur v. Kr., 3. Ser.	„	20	6	„	„	—	—	38,1	„
18	470	dgl.	„	19	8	„	„	—	—	38,3	„
19	575	Kultur v. Meerschw.	„	15	7	„	„	—	—	38,2	„
20	760	dgl.	„	30	—	„	„	—	—	39,3	„
21	530	Filtriertes Serum von Kranken, 4. Ser.	Kultur v. Kr., 24. Ser.	215	—	„	„	8 Tag.	5 Tag.	40,4	erholte sich
22	510	dgl.	dgl.	215	—	„	„	5 „	7 „	40,7	† nach 38 Tagen
23	585	Kultur v. Kr., 4. Ser.	dgl., 12. Ser.	413	11	„	„	—	—	38,1	gesund
24	570	Meerschweinchenblut	dgl.	421	15	„	„	—	—	38,3	„
25	495	Kultur v. Meerschw.	„	417	10	„	„	—	—	37,9	„
26	545	„ „ Kr., 5. Ser.	„	135	19	1,0	„	—	—	38,6	„
27	395	Meerschweinchenblut	dgl., 5. Ser.	27	13	0,5	„	—	—	38,5	„
28	545	Kultur v. Kr., 7. Ser.	dgl.	31	11	„	„	—	—	37,9	„
29	520	„ „ Meerschw.	„	19	15	„	„	—	—	38,2	„
30	505	„ „ „	„	19	12	„	„	—	—	38,1	„
31	585	„ „ Kr., 8. Ser.	dgl., 12. Ser.	177	5	„	„	—	—	38,3	„
32	570	„ „ „ 8. „	dgl.	170	7	„	„	—	—	38,1	„
33	505	„ „ Meerschw.	„	171	6	„	„	—	—	37,9	„
34	550	„ „ Kr., 8. Ser.	„	189	—	„	„	3 Tag.	—	40,3	† am 10. Tag nach der Infektion
35	525	„ „ „ 8. „	„	189	—	„	„	2 „	—	40,5	† am 4. Tag nach der Infektion
36	585	„ „ Meerschw.	dgl., 12. Ser.	154	6	„	„	—	—	38,1	gesund
37	595	„ „ „	dgl.	166	9	„	„	—	—	38,0	„
38	645	„ „ Kr., 9. Ser.	„	136	4	„	„	12 Tag.	1 Tag	39,7	erholte sich
39	720	„ „ „ 9. „	„	177	—	„	„	—	—	38,5	gesund
40	610	Blut v. Kr., 10. Ser.	dgl., 5. Ser.	43	—	„	„	2 Tag.	—	40,6	† am 5. Tag des Paroxysmus
41	595	„ „ „ 10. „	dgl.	43	—	„	„	3 „	—	40,5	† am 3. Tag des Paroxysmus

1) In den Fällen, die nach der 1. Infektion erkrankten, ist die Zwischenzeit von der Krisis bis zur 2. Infektion berechnet worden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nr. der Reihe nach	Gewicht der Meerschweinch. i. Gramm	Mit welchem Material ist die Infektion zum 1. Mal ausgeführt worden?	Mit welchem Material ist das Tier zum 2. Mal infiziert worden?	Zwischenzeit der 1. u. 2. Infekt. in Tgn.	Dauer des Paroxysmus nach d. 1. Infekt.	Dose des Infektionsstoffes in Kubikzent.	Applikationsart.	Dauer der Inkubationszeit.	Dauer des Paroxysmus.	Höchste Temperatur.	Versuchsergebnisse.
					Tage						
42	520	Kultur v. Kr., 10. Ser.	Kultur v. Kr., 5. Ser.	29	3	0,5	ip.	—	—	38,3	gesund
43	550	„ „ „ 10. „	dgl.	24	5	„	„	—	—	38,6	„
44	605	„ „ „ 10. „	„	19	4	„	„	—	—	38,2	„
45	615	„ „ „ 10. „	„	28	2	„	„	—	—	38,5	„
46	495	„ „ „ 10. „	„	27	—	„	„	36 Std.	—	40,7	† am 11. Tag des Paroxysmus
47	490	„ „ „ 10. „	„	27	—	„	„	5 Tag.	7 Tag.	40,4	erholte sich
48	520	Blut v. Kr., 14. Ser.	dgl., 4. Ser.	199	—	„	„	—	—	?	† nach 10 Std.
49	535	„ „ „ 14. „	dgl.	199	—	„	„	—	—	?	† „ 10 „
50	470	„ „ „ 14. „	„	199	—	„	„	—	—	?	† „ 10 „
51	585	„ „ „ 22. „	„	120	—	„	„	—	—	?	† „ 10 „
52	610	„ „ „ 22. „	„	120	—	„	„	—	—	?	† „ 10 „
53	425	„ „ „ 23. „	Blut v. Kr., 4. Ser.	60	6	3,0	„	—	—	38,3	gesund
54	560	„ „ „ 23. „	Kultur v. Kr., 4. Ser.	60	4	0,5	„	—	—	38,7	„
55	525	„ „ Meerschw.	Blut v. Kr., 4. Ser.	51	12	3,0	„	—	—	38,2	„
56	570	„ „ „	Kultur v. Kr., 4. Ser.	51	11	0,5	„	—	—	38,6	„
57	555	Kultur v. Kr., 23. Ser.	dgl.	57	7	0,5	„	—	—	38,2	„
58	415	Blut „ „ 24. „	Blut v. Kr., 5. Ser.	25	7	2,0	„	—	—	38,4	„
59	475	„ „ „ 24. „	Kultur v. Kr., 5. Ser.	25	5	1,0	„	9 Tag.	2 Tag.	39,8	erholte sich
60	525	„ „ Meerschw.	dgl.	20	7	0,5	„	—	—	38,3	gesund
61	460	Kultur „ „	„	12	13	1,0	„	—	—	38,7	„
62	380	„ „ Kr., 24. Ser.	Blut v. Kr., 5. Ser.	30	4	2,0	„	8 Tag.	5 Tag.	40,5	erholte sich
63	410	„ „ „ 24. „	Kultur v. Kr., 5. Ser.	32	3	1,0	„	24 Std.	—	40,9	+ am 3. Tag des Paroxysmus
64	565	„ „ „ 24. „	Blut v. Kr., 5. Ser.	33	3	2,0	„	3 Tag.	4 Tag.	40,1	erholte sich
65	610	„ „ „ 24. „	Kultur v. Kr., 5. Ser.	32	2	1,0	„	2 „	3 „	40,3	dgl.
66	480	Blut „ „ 24. „	Blut v. Kr., 5. Ser.	43	—	2,0	„	—	—	?	† nach 10 Std.
67	615	„ „ „ 24. „	Kultur v. Kr., 5. Ser.	43	—	0,5	„	—	—	?	† „ 10 „
68	490	Kultur „ „ 24. „	Blut v. Kr., 5. Ser.	40	—	2,0	„	—	—	?	† „ 10 „
69	550	„ „ „ 24. „	Kultur v. Kr., 5. Ser.	40	—	0,5	„	—	—	?	† „ 10 „

bacillus unempfänglich werden und die Unempfänglichkeit ziemlich lange Zeit (in meinen Versuchen bis 421 Tage) erhalten. Tab. 8 zeigt, daß von 69 zum 2. Mal infizierten Meerschweinchen 27 erkrankten und von diesen 18 gestorben sind. Von den nach der 2. Infektion erkrankten Tieren haben 19 Meerschweinchen auf die 1. Infektion überhaupt nicht reagiert und sind gesund geblieben.

Von den übrigen 8 Meerschweinchen, die sowohl auf die 1. wie auch auf die 2. Infektion reagiert haben, war 1 Meerschweinchen (Nr. 38)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zum 1. Male mit der schwach virulenten, aus Blut des Kranken der 9. Serie gezüchteten Kultur des Diplobacillus geimpft worden, und außerdem war es nicht gelungen, aus dem Blute dieses Tieres, das während des 1-täg. Paroxysmus nach der 2. Infektion entnommen wurde, die Kultur des Erregers zu züchten.

Weitere 5 Meerschweinchen (Nr. 59, 62, 63, 64 und 65) waren zum 1. Male mit ungefähr gleich virulenter, aus dem Blute der Kranken der 24. Serie gezüchteter Kultur des Diplobacillus geimpft worden; außerdem waren diesen Tieren, wie auch den übrigen 2 von den 8 Meerschweinchen (Nr. 7 und 8) je 1,0 ccm stark virulenter Kultur bzw. je 2,0 ccm stark toxischen Blutes vom Kranken der 5. Serie ip. resp. sk. bei der 2. Infktion injiziert worden.

Wie aus den entsprechenden Versuchen bei der 1. Infektion folgt, hat die aus dem Blute dieses Kranken gezüchtete Kultur des Diplobacillus bei der ip. Injektion von 0,1 ccm und bei der sk. von 0,2 ccm gesunde Tiere in 10 und 24 Std. getötet.

Andererseits war dieselbe, aus dem Blute des Kranken der 5. Serie gezüchtete Kultur, wie auch die gleich virulente, die aus dem Blute des Kranken der 12. Serie nicht imstande, in derselben Menge von 0,1 ccm bei ip. Injektion beim Meerschweinchen Nr. 61, das 12 Tage nach der Infektion mit der Kultur der 24. Serie einen 13-täg. Flecktyphus überstanden hat, wie auch beim Meerschweinchen 26, das vor 135 Tagen nach der Infektion mit der Kultur der Serie 5 einen 19-täg. Flecktyphus überstanden hat, Erkrankung hervorruften.

Von den übrigen, zu den wiederholten Versuchen benutzten Meerschweinchen sind 40, die den Flecktyphus nach der 1. Infektion überstanden haben, fest immun geworden und haben dabei auch auf die 2. Infektion in denjenigen Fällen nicht reagiert, in denen dieselbe 42 Tage nach der Krisis ausgeführt wurde.

Aus den in Tab. 8 zusammengestellten Versuchen folgt also, daß Meerschweinchen, die den Flecktyphus nach der Infektion mit Krankenblut oder aus demselben gezüchteten Reinkulturen des Diplobacillus überstanden haben, für eine neue Infektion mit diesem oder jenem Impfstoff unempfänglich werden, und daß nur in denjenigen Fällen, in dem die 1. Infektion mit schwach virulenten und die 2. mit einer großen Menge stark virulenten Impfstoffs ausgeführt wird, das infizierte Tier zum 2. Male erkranken kann.

Daß der nach der 2. Infektion bei den Tieren eingetretene Paroxysmus auf die Wirkung des Flecktyphuserregers zurückgeführt werden muß, dafür sprechen die aus dem Herzblute der erkrankten Tiere gezüchteten Reinkulturen des Diplobacillus, ganz gleich, ob die Tiere zum 2. Male mit dem Krankenblute oder mit der aus demselben gezüchteten Kultur des Diplobacillus geimpft worden sind.

Hervorgehoben muß noch werden, daß einige Meerschweinchen, wie Nr. 20 und 39 (Tab. 8), auf die 1. und 2. Infektion nicht reagiert haben und gesund blieben, obgleich beide Male derselben stark virulenten Kulturen des Diplobacillus einverleibt worden sind.

Diese Beobachtungen an Meerschweinchen stimmen mit den Erfahrungen, die während der letzten großen Flecktyphusepidemie in Rußland 1918—1921 gemacht worden sind, überein.

Im Laufe dieser Epidemie, während der ca. 30 Millionen Menschen an Flecktyphus erkrankten, wurden nicht selten wiederholte Erkran-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kungen an Flecktyphus beobachtet, und zwar sogar im Laufe ein und desselben Jahres.

Diese schreckliche Epidemie hat in verschiedenen Richtungen hin Abweichungen gezeigt, auf die ich in einer späteren Arbeit zurückkommen werde, die uns zwingen, unsere bis jetzt als feststehend betrachteten epidemiologischen Anschauungen zu ändern.

Nachdem die geschilderten Versuche bewiesen haben, daß die überstandene Infektion im Meerschweinchenkörper eine ziemlich feste und dauernde Immunität gegenüber dem Flecktyphus hervorbringt, habe ich zu ermitteln gesucht, ob eine derartige Immunität auch durch Vakzination mit abgetöteten Diplobazillenkulturen hervorgerufen werden kann, und habe deshalb entsprechende Versuche an Meerschweinchen angestellt.

Die Vakzine für diese Versuche wurde in der Weise hergestellt, daß einige Tage vorher aus dem Blute von 5 Flecktyphuskranken (der Serien 2, 3, 7, 10 und 24) gezüchtete, verschieden virulente, 24 Std. alte Kulturen des Diplobacillus von dem festen Nährboden, auf dem sie gezüchtet worden sind, abgehoben, in physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und $^1/_2$ Std. lang im Wasserbade bei 60° erwärmt wurden.

Von dieser Vakzine wurden je 1,0 ccm Meerschweinchen ip. 1-, 2- bzw. 3mal einverleibt, wobei die wiederholte Vakzination täglich durchgeführt wurde. Nach der Vakzination in den Zwischenzeiten von 32 bis 208 Tagen wurden den Meerschweinchen je 0,5 ccm der Aufschwemmung einer der virulentesten Kulturen oder je 2,0 ccm des virulenten Krankenblutes (der Serien 5 und 12) ip. injiziert.

Aus den in der Tab. 9 zusammengestellten Versuchen sehen wir, daß von 34, nach der vorausgegangenen Vakzination infizierten Tieren 13 Meerschweinchen erkrankten; 10 von denselben sind 200—208 Tage nach der Vakzination, die bei 6 Meerschweinchen 1mal, bei 5 2mal, bei 2 3mal ausgeführt wurde, infiziert worden.

Von den übrigen erkrankten 3 Meerschweinchen sind 2 38 Tage, und 1 36 Tage nach der Vakzination, die bei einem Meerschweinchen 1mal, bei den übrigen 2mal ausgeführt wurde, infiziert worden.

Dabei ist hervorzuheben, daß die in den letzten 3 Versuchen verwendete Vakzine aus schwach virulenten Kulturen der 3. und 10. Serie hergestellt worden ist. Dieselbe Vakzine hat aber, wie aus Tab. 9 zu entnehmen ist, bei den übrigen Versuchstieren eine feste, dauernde Immunität gegenüber der Infektion sowohl mit virulenten Kulturen des Diplobacillus, als auch mit stark virulentem Krankenblute hervorgerufen.

Um zu beweisen, daß der nach der Infektion bei den Tieren eingetretene Paroxysmus auf die Flecktyphusinfektion zurückzuführen ist, wurde sämtlichen Meerschweinchen während desselben aus dem Herzen Blut entnommen und zur Aussaat auf Nährböden benutzt. Hierdurch gelang es, im Blute von 11 der erkrankten Meerschweinchen den Diplobacillus nachzuweisen. Bei den Meerschweinchen Nr. 12 und 33, bei denen der Paroxysmus nur einen Tag dauerte, ist dies nicht gelungen, so daß ein kausaler Zusammenhang zwischen der Infektion und der 1-tägigen Temperatursteigerung nicht nachgewiesen werden konnte.

Im allgemeinen ergeben die Versuche in Tab. 9, daß auch eine 1-malige Vakzination mit auf 60° erwärmter Kultur des Diplobacillus die Meerschweinchen gegen eine Infektion mit stark virulenter Kultur des Diplobacillus, wie auch mit sehr virulentem Krankenblute im-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 9.
Vakzinationsversuche an Meerschweinchen.

Laufende Nr.	Gewicht der Meerschweinchen in Gramm	Aus welcher Kultur ist die Vakzine hergestellt worden?	Mit welchem Material wurde das Meerschweinchen infiziert?	Nach wievielen Tag. nach der Vakzinat.	Wieviel Mal vakziniert.	Dose des Infektionsmaterials.	Applikationsart.	Dauer der Inkubationszeit.	Dauer des Paroxysmus.	Höchste Temperatur.	Resultate der Versuche.
1	500	Kult. v. Kr., 7. Ser.	Kult. v. Kr., 5. Ser.	44	3	0,5	ip.	—	—	38,0	gesund
2	415	„ „ „ 7. „	„ „ „ 12. „	208	3	„	„	—	—	38,3	„
3	440	„ „ „ 7. „	„ „ „ 5. „	44	2	„	„	—	—	38,1	„
4	460	„ „ „ 7. „	„ „ „ 12. „	208	2	„	„	—	—	38,5	„
5	325	„ „ „ 7. „	„ „ „ 5. „	44	1	„	„	—	—	37,8	„
6	390	„ „ „ 7. „	„ „ „ 12. „	208	1	„	„	3 Tage	4 Tage	40,1	erholte sich
7	420	Kult. v. Kr., 24. Ser.	„ „ „ 5. „	42	1	„	„	—	—	38,2	gesund
8	385	„ „ „ 24. „	„ „ „ 12. „	206	1	„	„	10 Std.	—	40,6	† am 3. Tage d. Paroxysmus
9	450	„ „ „ 24. „	„ „ „ 5. „	42	2	„	„	—	—	38,7	gesund
10	465	„ „ „ 24. „	„ „ „ 12. „	206	2	„	„	36 Std.	2 Tage	39,9	erholte sich
11	510	„ „ „ 24. „	„ „ „ 5. „	42	3	„	„	—	—	38,0	gesund
12	625	„ „ „ 24. „	„ „ „ 12. „	206	3	„	„	2 Tage	1 Tag	39,8	erholte sich
13	480	Kul v. Kr., 10. Ser.	„ „ „ 5. „	38	3	„	„	—	—	37,9	gesund
14	535	„ „ „ 10. „	„ „ „ 12. „	202	3	„	„	—	—	38,1	„
15	460	„ „ „ 10. „	„ „ „ 5. „	38	2	„	„	5 Tage	4 Tage	39,7	erholte sich
16	395	„ „ „ 10. „	„ „ „ 12. „	202	2	„	„	2 „	5 „	39,8	„ „
17	370	„ „ „ 10. „	„ „ „ 5. „	38	1	„	„	2 „	3 „	39,5	„ „
18	445	„ „ „ 10. „	„ „ „ 12. „	202	1	„	„	24 Std.	—	40,7	† am 4. Tage d. Paroxysmus
19	570	Kult. v. Kr., 2. Ser.	„ „ „ 5. „	36	3	„	„	—	—	37,6	gesund
20	440	„ „ „ 2. „	„ „ „ 12. „	200	3	„	„	—	—	38,7	„
21	465	„ „ „ 2. „	Blut „ „ 5. „	32	1	2,0	„	—	—	38,1	„
22	390	„ „ „ 2. „	Kult. „ „ 5. „	36	2	0,5	„	—	—	38,3	„
23	370	„ „ „ 2. „	„ „ „ 12. „	200	2	„	„	24 Std.	3 Tage	40,0	erholte sich
24	345	„ „ „ 2. „	Blut „ „ 5. „	32	1	2,0	„	—	—	38,2	gesund
25	325	„ „ „ 2. „	Kult. „ „ 5. „	36	1	0,5	„	—	—	38,1	„
26	490	„ „ „ 2. „	„ „ „ 12. „	200	1	„	„	—	—	38,4	„
27	515	Kult. v. Kr., 3. Ser.	„ „ „ 5. „	36	3	„	„	—	—	37,8	„
28	570	„ „ „ 3. „	„ „ „ 2. „	200	3	„	„	6 Tage	7 Tage	40,5	† nach 21 Tag. n. der Krisis
29	445	„ „ „ 3. „	Blut „ „ 5. „	32	1	2,0	„	—	—	38,7	gesund
30	460	„ „ „ 3. „	Kult. „ „ 5. „	36	2	0,5	„	—	—	38,0	„
31	425	„ „ „ 3. „	„ „ „ 12. „	200	2	„	„	2 Tage	—	40,6	† am 8. Tage des Paroxysmus
32	480	„ „ „ 3. „	Blut „ „ 5. „	32	1	2	„	—	—	38,9	gesund
33	365	„ „ „ 3. „	Kult. „ „ 5. „	36	1	0,5	„	9 Tage	1 Tag	40.1	erholte sich
34	400	„ „ „ 3. „	„ „ „ 12. „	200	1	„	„	10 Std.	—	40,8	† nach 24 Std.

mun werden und die eingetretene Immunität ziemlich lange (in meinen Versuchen bis 208 Tage) festhalten können.

Die wiederholte Vakzination erhöht die Unempfänglichkeit der Tiere, aber auch in diesen Fällen ist es von Wichtigkeit, zur Herstellung der Vakzine virulente Kulturen zu benutzen, und zwar besonders in den Fällen, in denen zur nachfolgenden Infektion stark virulenter Impfstoff benutzt wird.

Dabei muß ausdrücklich hervorgehoben werden, daß einige stark toxische Kulturen des Diplobacillus auch nach dem Erwärmen auf 60° ihre Toxizität behalten, wie aus den Versuchen der 5. Serie zu

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

entnehmen ist. Aber auch diesen toxischen Kulturen gegenüber waren die vakzinierten Tiere, wie aus den Versuchen der Tab. 9 folgt, unempfänglich.

Die individuellen Besonderheiten der Tiere sind auch bei diesen Versuchen von Bedeutung.

Tabelle 10.

Passagenversuche des Erregers im Blute und Kultur durch Meerschweinchen.

Laufende Nr.	Gewicht der Meerschweinch. in Gram.	Welches Infektionsmaterial wurde injiziert?	Wann ist das Blut vom Kranken oder infizierten Meerschweinchen entnommen worden?	Welche Passage.	Dose des Infektionsmaterials.	Applikationsart.	Dauer der Inkubationszeit.	Dauer des Paroxysmus.	Höchste Temperatur.	Resultate der Versuche
1	365	Kultur v. Kr., 4. Serie	21 Tage v. d. Krisis	1	0,2	sk.	10 Std.	11 Tge.	40,4	erholte sich
2	405	Blut v. Meerschw. Nr. 1	am 3. Tage d. Par.[1])	2	2,0	ip.	10 „	15 „	40,6	„ „
3	385	„ „ „ „ 1	„ 3. „ „ „	2	2,0	„	10 „	—	41,2	† am 10. Tg. d. Par.[1])
4	315	Kult. „ „ „ 1	„ 3. „ „ „	2	0,1	„	10 „	10 Tge.	40,8	erholte sich
5	335	„ „ „ „ 1	„ 3. „ „ „	2	0,1	„	10 „	—	40,5	† nach 4 Tagen
6	475	Blut „ „ „ 2	„ 3. „ „ „	3	2,0	„	10 „	—	40,9	† „ 7 „
7	415	„ „ „ „ 2	„ 3. „ „ „	3	2,0	„	10 „	—	40,7	† „ 2 „
8	510	Kult. „ „ „ 4	„ 4. „ „ „	3	0,1	„	10 „	—	39,6	† „ 4 Std.
9	455	„ „ „ „ 4	„ 4. „ „ „	3	0,1	„	10 „	—	40,4	† „ Tagen
10	430	Blut „ „ „ 6	„ 3. „ „ „	4	2,0	„	10 „	—	40,8	† „ Std.
11	390	„ „ „ „ 6	„ 3. „ „ „	4	2,0	„	10 „	—	40,5	† am 4. Tg. d. Par.[1])
12	560	Kult. „ „ „ 9	„ 3. „ „ „	4	0,1	„	24 „	9 Tge.	40,2	erholte sich
13	545	„ „ „ „ 9	„ 3. „ „ „	4	0,2	sk.	9 Tge.	5 „	40,8	„ „
14	505	Blut „ „ „ 11	„ 3. „ „ „	5	2,0	ip.	—	—	?	† nach 10 Std.
15	535	„ „ „ „ 11	„ 3. „ „ „	5	2,0	„	—	—	?	† „ 10 „
16	465	Kult. „ „ „ 12	„ 3. „ „ „	5	0,1	„	24 Std.	12 Tge.	40,6	erholte sich
17	480	„ „ „ „ 12	„ 3. „ „ „	5	0,1	„	36 „	—	41,1	† am 7. Tg. d. Par.[1])
18	590	„ „ „ „ 16	„ 5. „ „ „	6	0,1	„	3 Tge.	8 Tge.	40,6	erholte sich
19	625	„ „ „ „ 16	„ 5. „ „ „	6	0,1	„	5 „	6 „	40,3	„ „
20	440	„ „ „ „ 18	„ 3. „ „ „	7	0,1	„	24 Std.	—	40,4	† am 3. Tg. d. Par.[1])
21	425	„ „ „ „ 18	„ 3. „ „ „	7	0,1	„	36 „	10 Tge.	39,9	erholte sich
22	415	„ „ „ „ 21	„ 4. „ „ „	8	0,1	„	10 „	16 „	40,5	„ „
23	390	„ „ „ „ 21	„ 4. „ „ „	8	0,1	„	10 „	—	40,8	† am 5. Tg. d. Par.[1])
24	470	„ „ „ „ 22	„ 2. „ „ „	9	0,1	„	—	—	?	† nach 10 Std.
25	450	„ „ „ „ 22	„ 2. „ „ „	9	0,1	„	—	—	?	† „ 10 „
26	525	Blut v. Kr., 5. Serie	18 Tage v. d. Krisis	1	3,0	„	24 Std.	—	39,2	† „ 34 „
27	395	„ „ „ 5. „	18 „ „ „ „	1	3,0	„	—	—	35,2	† „ 24 „
28	515	Blut v. Meerschw. Nr. 26	24 Std. n. d. Infekt.	2	2,5	sk.	3 Tge.	4 Tge.	40,2	† 2 Tage n. d. Krisis
29	360	„ „ „ „ 26	24 „ „ „ „	2	2,0	„	24 Std.	—	39,7	† nach 5 Tagen
30	620	„ „ „ „ 28	am 3. Tg. d. Par.[1])	3	2,0	„	2 Tge.	—	40,0	† am 8. Tg. d. Par.[1])
31	585	„ „ „ „ 28	„ 3. „ „ „	3	2,0	„	3 „	—	39,8	† „ 10. „ „ „
32	370	„ „ „ „ 31	„ 5. „ „ „	4	2,0	„	—	—	?	† nach 24 Std.
33	445	„ „ „ „ 31	„ 5. „ „ „	4	2,0	„	—	—	?	† „ 24 „
34	460	Kult. „ „ „ 79	„ 5. „ „ „	1	0,1	ip.	5 Tge.	4 Tge.	40,1	erholte sich
35	485	„ „ „ „ 79	„ 5. „ „ „	1	0,1	„	7 „	9 „	40.4	„ „
36	490	„ „ „ „ 34	„ 3. „ „ „	2	0,1	„	36 Std.	9 „	40,2	„ „
37	535	„ „ „ „ 34	„ 3. „ „ „	2	0,1	„	3 Tge.	11 „	39,8	„ „
38	320	„ „ „ „ 35	„ 3. „ „ „	2	0,1	„	—	—	?	† nach 24 Std.
39	370	„ „ „ „ 35	„ 3. „ „ „	2	0,1	„	—	—	?	† „ 24 „
40	345	„ „ „ „ 37	„ 3. „ „ „	3	0,1	„	24 Std.	—	40,5	† am 3. Tg. d. Par.[1])
41	400	„ „ „ „ 37	„ 3. „ „ „	3	0,1	„	10 „	—	40,6	† „ 5. „ „ „
42	440	„ „ „ „ 41	„ 2. „ „ „	4	0,1	„	—	—	?	† nach 24 Std.
43	405	„ „ „ „ 41	„ 2. „ „ „	4	0,1	„	—	—	?	† „ 10 „

1) Par. = Paroxysmus.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Was die Wirkung des tierischen Körpers auf die Virulenz des Erregers anbelangt, so folgt schon aus den geschilderten Versuchen, daß diese Wirkung eine verschiedene ist, je nach dem Stamme des Erregers und den individuellen Besonderheiten des Versuchstieres; dasselbe wurde auch in den systematischen Passageversuchen durch mehrere Meerschweinchen bestätigt (Tab. 10).

Die Passagen sind mit während des Paroxysmus den Kranken und nacheinander geimpften Meerschweinchen entnommenem Blute ebenso wie mit aus dem Krankenblute und dem Herzblute der voneinander infizierten Meerschweinchen gezüchteten Reinkulturen des Diplobacillus ausgeführt worden. In einer Versuchsreihe sind 8 Passagen von einem Meerschweinchen zu dem anderen durchgeführt worden.

Aus diesen, in Tab. 10 zusammengestellten Versuchen ist zu entnehmen, daß dieselben zwar nicht erlauben, von einer gesetzmäßigen Veränderung der Virulenz des Erregers nach den Passagen durch Meerschweinchen zu sprechen, sie doch den Beweis liefern, daß bei der Passage durch den Körper dieser Tiere der Diplobacillus, gleich ob im Blute oder in Reinkultur, die Neigung zur Steigerung seiner Virulenz erhält.

Es muß dabei in Betracht gezogen werden, daß für die systematischen Passagen nur stark virulentes Blut und Reinkulturen des Diplobacillus, die von den Kranken der 4. und 5. Serien erhalten waren, benutzt worden sind. Die letzterwähnte Tatsache kann auch die bedeutende Mortalität unter den zu den Passageversuchen benutzten Tieren erklären.

Sämtliche nach der Flecktyphusinfektion eingegangenen Tiere wurden regelmäßig seziert und ihre Organe für die histologische Untersuchung konserviert.

Selbstverständlich wurden jedesmal, um eine Mischinfektion auszuschließen, die Organe einer bakteriologischen Untersuchung unterzogen und einige mit banalen Bakterien infizierte Versuchstiere von den übrigen abgeschlossen.

Der plötzliche Ausbruch des Weltkrieges hat mich verhindert, die histologischen Untersuchungen zu Ende zu bringen, so daß ich die langjährigen Forschungen abschließen mußte, ohne die pathologisch-histologischen Untersuchungen mit ausführen zu können.

Von dem gesammelten reichen Material ist leider nur ein kleiner Teil erhalten geblieben, der aber ausreicht, um festzustellen, daß bei Meerschweinchen, die nach Infektion mit Krankenblut oder mit dem Blute erkrankter Meerschweinchen, oder mit Reinkultur des Diplobacillus in der geschilderten Weise erkranken, ganz gleiche pathologische Veränderungen an den Gefäßen zum Vorschein kommen, die mit denjenigen bei an Flecktyphus verstorbenen Menschen übereinstimmen.

An den kleinen Gefäßen wurde Knötchenbildung in sämtlichen Fällen, die nach dauerndem Paraxysmus eingegangen sind, im Gehirn beobachtet und in 1 Falle, in dem das Tier mit Reinkultur des Diplobacillus aus der Serie 5 geimpft war, wurden die Knötchen auch in den Nieren nachgewiesen. In den Lungen, der Leber, Milz, Pankreas, Testes, Magen und Darm habe ich in den von mir untersuchten Fällen keine für den Flecktyphus spezifischen Knötchen an den kleinen Gefäßen konstatieren können.

Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Zum Schlusse ziehe ich aus den geschilderten Impfversuchen an Meerschweinchen folgende Schlüsse: 1) Während des Paroxysmus Flecktyphuskranken entnommenes Blut und aus demselben gezüchtete Reinkulturen des Diplobacillus sind meist für Meerschweinchen virulent und rufen bei denselben nach ip. Einverleibung einen Paroxysmus hervor, der demjenigen der Flecktyphuskranken ähnlich ist. — 2) Die Dauer der Inkubationsperiode und des Paroxysmus, wie auch der Ausgang der Erkrankung bei den infizierten Meerschweinchen hängt von der Virulenz des Erregers, der Menge des in den Tierkörper injizierten Impfstoffes, der Applikationsart desselben und von den individuellen Besonderheiten des betreffenden Tieres ab. — 3) Im Zusammenhang mit sämtlichen aufgezählten Bedingungen kann der Paroxysmus beim infizierten Meerschweinchen 1—28 Tage dauern und kommt nach einer Inkubationszeit von 9 Std. bis 37 Tagen zum Vorschein. — 4) Die Schwere der Erkrankung bei den infizierten Meerschweinchen entspricht meist derjenigen beim Kranken, von dem der Impfstoff erhalten wurde; aber manchmal kann im Zusammenhange mit den individuellen Besonderheiten des kranken Körpers der Krankheitsverlauf bei demselben trotz der hohen Virulenz des Erregers ein leichter sein. Manchmal ist auch das Umgekehrte der Fall. — 5) Die Virulenz des Blutes und der aus demselben gezüchteten Kulturen des Diplobacillus wird bei ein und demselben Kranken desto schwächer, je näher der Krisis sie dem Kranken entnommen werden, und vor der Krisis verschwindet sie oft ganz. — 6) In den letal verlaufenden Flecktyphusfällen werden das Krankenblut und die aus demselben gezüchteten Kulturen des Diplobacillus desto virulenter, je näher dem Exitus sie dem Kranken entnommen werden. — 7) Aus dem geronnenen Blut, das während des Paroxysmus den Kranken entnommen wurde, selbständig ausgeschiedenes Serum ist ebenso virulent, wie das Vollblut, und aus dem Herzblute mit diesem Serum infizierter Meerschweinchen kann während des Paroxysmus die Reinkultur des Diplobacillus gezüchtet werden. — 8) Dasselbe Serum wird nach der Filtration durch Berkefeld-Kerzen ganz avirulent; aus demselben den Diplobacillus zu züchten, gelingt nicht. — 9) Das Herzblut der Meerschweinchen, die nach Infektion mit Krankenblut oder aus demselben gezüchteten Kulturen des Diplobacillus erkranken, ist, während des Paroxysmus entnommen, für Meerschweinchen virulent und gibt bei der Aussaat Wachstum des Diplobacillus häufig auch dann, wenn aus dem zur Impfung benutzten Blute die Züchtung desselben mißlang. — 10) Die Wirkung der Passage durch den Tierkörper auf die Virulenz des Diplobacillus ist eine verschiedene und hängt von der Virulenz der Kultur, der Dauer seines Verweilens im Tierkörper und von den individuellen Besonderheiten dieses Körpers ab; aber im allgemeinen verstärken wiederholte Passagen die Virulenz des Erregers. — 11) Die Passage durch den kindlichen Körper, der für den Fleck-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

typhus schwach empfänglich ist, schwächt die Virulenz des Erregers wie auch seine Wachstumsfähigkeit auf künstlichen Nährböden ab. — 12) Im Gegensatz zum kindlichen Körper sind junge Meerschweinchen bedeutend empfänglicher für den Flecktyphus als ältere; sie erkranken nach der Infektion unter gleichen Bedingungen leichter und schneller und gehen häufiger zugrunde. — 13) Die Abschwächung der Virulenz des Erregers beginnt auf künstlichen Nährböden schon von der 2. Woche nach der Isolierung und nach 3—5 Wochen, häufig schon bedeutend früher, besonders bei häufigen Ueberimpfungen, geht seine Virulenz für Meerschweinchen ganz verloren. — 14) Nach der Infektion, selbst mit großen Dosen von derartigen abgeschwächten Kulturen, bleiben die Tiere gesund, und bei nachfolgender Infektion mit virulenter Kultur oder Krankenblut erkranken sie an typischem Flecktyphus. — 15) Im Gegensatz dazu werden Meerschweinchen, die den Flecktyphus überstanden haben, für eine 2. Infektion unempfänglich und erhalten ihre Immunität ziemlich lange (in meinen Versuchen bis 421 Tage). — 16) In ähnlicher Weise unempfänglich für die wiederholte Infektion mit virulentem Impfstoff (Blut oder Reinkultur des Diplobacillus) werden mit auf 60° erwärmten virulenten Reinkulturen vakzinierte Meerschweinchen; sie erhalten nach wiederholter Vakzination ihre Immunität ziemlich lange (in meinen Versuchen bis 208 Tage). — 17) An den Gehirngefäßen der Meerschweinchen, die an Fleckfieberinfektion eingegangen sind, ganz gleich ob die Infektion mit Krankenblut, mit Herzblut von erkrankten Meerschweinchen oder mit Reinkultur des Diplobacillus ausgeführt wurde, kommen regelmäßig typische, pathologisch-histologische Veränderungen (Knötchenbildung) vor, die mit denjenigen bei an Flecktyphus Verstorbenen übereinstimmen.

IV. Vakzinationsversuche an Menschen.

Die 1. Vakzination habe ich 1908, nachdem mir die ersten Kulturen des Diplobacillus zu züchten und seine Virulenz für Meerschweinchen zu konstatieren gelungen war, an mir selbst angestellt.

Auf Aszitesagar gezüchtete 24-stündige virulente Kulturen habe ich mit physiol. Kochsalzlösung abgewaschen, $^1/_2$ Std. bei 60° erwärmt und mit 0,5-proz. Karbolsäure versetzt. Die Zahl der Bakterien in der Aufschwemmung wurde durch Zählen im Blutkörperchen-Zählapparat von Zeiss-Thoma und durch Aussaat auf Petri-Schalen mit Aszitesagar bestimmt. Die Vakzination wurde 3mal in Abständen von 5 Tagen mit je 0,5, 1,0 und 1,5 ccm einer Bazillenaufschwemmung, die ca. 500 Millionen Keime in 1 ccm enthielt, ausgeführt.

Nach der 1. Vakzination stieg die T° bis 38,2°, sank aber am nächsten Tage bis zur Norm. An der Impfstelle bildete sich ein Infiltrat, an dem die Haut leicht gerötet war, und das nach 1 Woche noch nicht ganz verschwand. Von subjektiven Empfindungen sind zu nennen: Zerschlagenheit, leichte Kopfschmerzen und Schmerzhaftigkeit an der Impfstelle.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach der 2. Injektion der Vakzine stieg die T° bis 37,3°; die objektiven und subjektiven Erscheinungen waren dieselben. Nach der 3. Injektion waren außer Schmerzhaftigkeit an der Impfstelle keine Erscheinungen zu verzeichnen.

Das Blutserum, das ich 8 Tage nach der letzten Vakzineinjektion mir entnommen habe, hat die Diplobazillenkultur in der Verdünnung 1:240 agglutiniert. Der Komplementbindungsversuch konnte damals nicht angestellt werden, aber bei den weiteren Vakzinationen, denen ich mich seit 1912 wiederholt unterzogen habe, hat mein Blutserum komplette Komplementbindung ergeben.

Zahlreiche Vakzinationsversuche an Menschen habe ich, trotzdem die wiederholten Versuche, die ich an mir selbst ausgeführt habe, den Beweis lieferten, daß dieselben ganz unschädlich sind und die Bildung von Antikörpern hervorrufen, aus begreiflichen Gründen nicht anstellen können.

Erst Ende 1919, als der Flecktyphus sich ungeheuer über ganz Rußland verbreitet hatte und Hunderte von Aerzten demselben zum Opfer fielen, habe ich ganz zufällig ein kurzes Referat über die zahlreichen, von Plotz, Olitsky und Baehr ausgeführten Vakzinationsversuche an Menschen bekommen. Dieses habe ich in der „Vereinigten Wissenschaftlichen Kommission zur Erforschung des Flecktyphus“ vorgetragen und an die Kommission die Forderung gestellt, daß die Mitteilung der amerikanischen Forscher in Anbetracht der kollossalen Flecktyphusepidemie in großem Maßstabe nachgeprüft werde. Die Kommission verweigerte dies aber. Erst nach langem Propagandieren gelang es mir, die Kollegen zu überzeugen, worauf die Kommission eine spezielle Sektion unter meiner Leitung gewählt und zur Ausführung von Vakzinationsversuchen an Menschen ihre Zustimmung gegeben hat[1]).

Es wurden nach dem Plotzschen Verfahren aus dem Krankenblute die bipolaren Stäbchen isoliert, und da sie auf festen Nährböden kümmerlich wuchsen, wurden zur Herstellung der Vakzine 8 Tage alte, anaërob in Zucker-Aszites-Bouillon gezüchtete Kulturen benutzt. Am Boden des 300 ccm großen Zylinders auf dem Nährboden gewachsene Keime wurden, von letzteren befreit, 3mal mit physiol. Kochsalzlösung gewaschen und aus den gewaschenen Kulturen eine Aufschwemmung, die ca. 1 Milliarde Keime in 1 ccm enthielt, hergestellt. Nachdem die Aufschwemmung 1 Std. lang bei 60° erwärmt worden war, wurde 0,6-proz. Karbolsäure zugesetzt.

Die Vorprüfung der Vakzine an Meerschweinchen, 2 Aerzten und 3 Laboratoriumsdienern erwies die Unschädlichkeit derselben, worauf dann erst im März 1920 zur Vakzination, besonders des Medizinalpersonals der Flecktyphusabteilungen, geschritten wurde.

Im ganzen wurden 229 Individuen der Impfung mit dieser Vakzine unterzogen, von denen haben 145 Kandiba, Glusmann und Kogan und 84 ich persönlich durchgeführt. Zur 1. Injektion wurden jedesmal 0,5 ccm, zur 2. 1,0 ccm, und zur 3. 1,5 ccm benutzt; die wiederholten Injektionen wurden in Abständen von 5 Tagen gemacht.

---

1) Wratschebnoje Delo. 1920. No. 2. [Die Leitung der Sektion habe ich kurz darauf aufgegeben, da ich mich schon im Anfange der experimentellen Untersuchungen überzeugt habe, daß dieselbe aus verschiedenen Gründen mit der notwendigen Zuverlässigkeit nicht durchgeführt werden konnte.]

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Unter den erwähnten 145 vakzinierten Individuen waren 23 Aerzte, 113 andere medizinische Personen und 9 Privatleute. Von diesen wurden 74 3mal, 35 2mal und 36 1mal vakziniert. Die Temperaturreaktion nach der Vakzination konnte von den Autoren wegen Mangels an Thermometern nicht in allen Fällen bestimmt werden; nur in 9 Fällen wurde eine T° von 38,5° verzeichnet. Andere Erscheinungen, wie allgemeine Zerschlagenheit, schlechter Schlaf und Schmerzhaftigkeit der Injektionsstelle ohne entzündliche Symptome sind in 67 Fällen verzeichnet worden; in 76 Fällen keine Reaktion.

Bis Ende April haben die Autoren unter den Vakzinierten, die sie nur ca. 6 Wochen beobachten konnten, 4 Erkrankungen an Flecktyphus, von denen eine letal endete, verzeichnet. Der Verstorbene erkrankte bald nach der 3. Injektion; 1 Vakzinierter am 13. Tage nach der 2., und 2 am 10. bzw. 30. Tage nach der 1. Injektion.

Unter den von mir persönlich mit derselben Vakzine in gleicher Art geimpften Individuen waren 5 Aerzte, 67 andere Medizinalpersonen, 4 im Krankenhause angestellte Beamte und 8 Kinder. Von diesen haben 64 je 3mal, 10 je 2mal und 10 je 1mal die Vakzineinjektion bekommen. Die Temperaturmessung ergab in 6 Fällen eine Temperaturerhöhung von 38°—38,7°; in 15 Fällen von 37,2°—37,9°; die T° hielt in 3 Fällen 2 Tage, in den übrigen von 10—24 Std. an.

Bei den übrigen Vakzinierten kam keine Temperaturreaktion zum Vorschein. An den Impfstellen wurden in den meisten Fällen leichte Rötung und Infiltrate, die in einigen Tagen verschwanden, beobachtet. Von subjektiven Erscheinungen haben 52 Individuen über Kopfschmerzen, Zerschlagenheit, Schmerzen an der Impfstelle und Unbehagen geklagt. Die geimpften Kinder waren im Alter von 5—15 Jahre. Nur bei 3 kleineren (5—8 Jahre alten) stieg die T° bis 37,2°, sonst haben sich die Kinder, von Schmerzen an der Impfstelle abgesehen, wohlgefühlt. Von den von mir Vakzinierten sind im Laufe der Beobachtungszeit in ca. 6 Mon. 2 an Flecktyphus erkrankt.

Es handelte sich in einem Falle um ein 18-jähriges schwächliches Mädchen. Es wurde den 25. Febr. mit 0,5 der Vakzine geimpft. Vor der Impfung hat die Temperaturmessung 36,5° ergeben, 12 Std. nach derselben T° 35,9°; an der Impfstelle leichte Rötung und Schmerzhaftigkeit, Zerschlagenheit, Unbehagen und Kopfschmerzen. Die Erscheinungen verschwanden am 3. Tage. Die betreffende Person wollte sich nicht weiter impfen lassen.

Am 23. März erkrankte dieses Mädchen, das kurz darauf seine an Flecktyphus erkrankte Mutter pflegte, selbst daran. Der Paroxysmus dauerte 9 Tage und der Krankheitsverlauf war ein ganz leichter; bei der Einlieferung in die Flecktyphusabteilung am 6. Krankheitstage war die T° 38.2, an der Haut spärliche Petechien, volles Bewußtsein und keine besonderen Klagen. Am 10. Tage morgens sank die T° bis 36,8° und 8 Tage später hat die Kranke das Krankenhaus verlassen.

Im zweiten Falle handelte es sich um eine 22-jähr. Wärterin der Flecktyphusabteilung, die am 9. März mit 0,5 ccm Vakzine geimpft wurde. Vor der Impfung T° 37,°, abends desselben Tages 37,2°. 10. März morgens 36,2° Schmerzen an der Impfstelle, Zerschlagenheit, Kopfschmerzen, Unwohlgefühl, das sie seit einigen Tagen schon spürte, hat aber die Arbeit nicht aufgegeben. Am 13. März morgens war die T° 37,8°, abends 39,0° und bis zum 17. März bewegte sie sich zwischen 39,2—39,9. 17. März morgens 38,0°, abends 38,5; 18. März morgens 37,3, abends 38,5° Petechien. 19. März 38,4°—39,0°; 20. März 36,7°—37,0°; 21. März 36,0—36,4°. Der Krankheitsverlauf war sehr leicht; die Kranke wollte nicht liegen und hat häufig das Bett verlassen und am 19. Krankheitstage wurde sie aus der Abteilung entlassen.

Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

In beiden Fällen haben also die Erkrankten nur je eine Vakzineinjektion bekommen und beide den Flecktyphus, der bei einer 9 Tage, bei der zweiten 7 Tage dauerte, leicht und ohne jede Komplikation überstanden. Dabei ist in Betracht zu ziehen, daß es sich in beiden Fällen um jugendliche Individuen gehandelt hat, bei denen häufig der Flecktyphus leicht verläuft, aber nicht selten auch letal endigt.

Wenn auch aus den geschilderten Vakzinationsversuchen keine weitgehenden Schlüsse erlaubt sind, so ist es doch merkwürdig, daß von dem übrigen vakzinierten Wärterpersonal, von dem ein großer Teil bis zur letzten Zeit beobachtet werden konnte, trotz dem stäten Kontakt mit Flecktyphuskranken, keiner an Flecktyphus erkrankte, während vom übrigen, nicht geimpften Personal der größte Teil im Laufe der Zeit den Flecktyphus überstanden, teils an demselben zugrunde gegangen ist.

Sehr lehrreich sind weitere Vakzinationsversuche, die ich mit nach meinem Verfahren aus dem Herzblute von Meerschweirchen, die mit Krankenblut geimpft waren, gezüchteten Kulturen des Diplobacillus hergestellter Vakzine ausgeführt habe.

Mit in der oben geschilderten Weise aus 2 virulenten Passagekulturen hergestellter Vakzine, die ca. 500 Millionen Keime in 1 ccm enthielt, wurden 12 Abiturienten der Feldschererschule je 3mal (mit 0,5, 1,0 bzw. 1,5 ccm) geimpft und kurz darauf, nach Absolvierung der Schule, wurden sie mobilisiert und zur Bekämpfung des Flecktyphus versandt. Nach den im Laufe der letzten Zeit über das Schicksal dieser Feldscherer erhaltenen Nachrichten sind 10 von ihnen an Flecktyphus nicht erkrankt, von den übrigen 2 Geimpften habe ich nichts ermitteln können.

Berücksichtigt man die geschilderten Ergebnisse der Vakzinationsversuche an Menschen und vergleicht dieselben mit den Vakzinationsversuchen an Meerschweinchen wie auch mit den sehr lehrreichen statistischen Forschungen von Tarassewitsch[1]), die nachweisen, daß im Laufe der Jahre 1918—1921 von der Bevölkerung Rußlands ca. 30 Proz. an Flecktyphus erkrankten, so sind diese Ergebnisse der Vakzination als sehr ermutigend zu betrachten.

Die Ergebnisse sämtlicher im Laufe von 14 Jahren fortgesetzten experimentellen Untersuchungen über den Flecktyphuserreger können in folgender Weise kurz zusammengefaßt werden: 1) Im Blute sämtlicher Flecktyphuskranken wird ein ganz eigentümliches, nur mit Giemsa-Farbe sich färbendes bipolares Doppelstäbchen nachgewiesen, das auf bestimmten Nährböden in 82,4 Proz. der Flecktyphusfälle, und zwar ausschließlich bei dieser Krankheit, während des Paroxysmus aus Venenblut gezüchtet werden kann. — 2) Dasselbe bipolare Stäbchen wurde auch systematisch in an Flecktyphuskranken während des Paroxysmus infizierten Läusen nachgewiesen und kann aus denselben in Reinkultur gezüchtet werden. — 3) Dasselbe bipolare Stäbchen wurde in den Hautexanthemen und in den inneren Organen an Flecktyphus während des Paroxysmus Verstorbener nachgewiesen. — 4) Dasselbe bipolare Doppelstäbchen wurde auch systematisch aus dem Herzblute von mit Krankenblut oder mit dem Herzblute von Flecktyphus-Meerschweinchen infizierten Meerschweinchen in Reinkultur gezüchtet. — 5) Die gezüchteten bipolaren Stäbchen zeigen auf den verschiedenen künstlichen Nährböden ganz eigentümliche biologische

1) Obchestwenny Wratsch. 1922. Nr. 1.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eigenschaften. — 6) Die Reinkultur dieses bipolaren Doppelstäbchens wird in 90,3 Proz. der Fälle von den Flecktyphusseris agglutiniert, und der wässerige Extrakt aus derselben gibt mit den Flecktyphusseren in 82,2 Proz. der Fälle Komplementbindung. Beide Reaktionen wurden hauptsächlich bei Benutzung von nach der Krisis entnommenen Seris beobachtet. — 7) Die Reinkultur dieses bipolaren Doppelstäbchens ist häufig für Meerschweinchen virulent und ruft bei den infizierten Tieren ein Krankheitsbild hervor, das dem bei mit entsprechendem Krankenblute geimpften Tieren ähnlich ist. — 8) Bei Meerschweinchen, die nach Infektion mit Krankenblut oder mit der Reinkultur dieses bipolaren Stäbchens erkranken, werden dieselben pathologisch-histologischen Veränderungen an den kleinen Gefäßen beobachtet, die regelmäßig bei den Flecktyphuskranken zum Vorschein kommen. — 9) Nach Infektion mit Krankenblut oder mit Reinkultur dieses bipolaren Stäbchens werden Meerschweinchen, die den Flecktyphus überstanden haben, meist für wiederholte Infektion mit Krankenblut oder der Reinkultur des bipolaren Stäbchens unempfänglich. — 10) Mit abgetöteter Reinkultur dieses bipolaren Stäbchens geimpfte Meerschweinchen werden gegen nachfolgende Infektion mit Reinkultur oder Krankenblut unempfänglich. — 11) Mit abgetöteter Reinkultur dieses bipolaren Stäbchens geimpfte Menschen werden in der überwiegenden Zahl der Fälle gegen natürliche Infektion immun.

Alle diese experimentell festgestellten Tatsachen beweisen, daß das 1908 von mir entdeckte bipolare Doppelstäbchen den Flecktyphuserreger darstellt. Ich glaube deshalb, daß dasselbe **Diplobacillus exanthematicus** genannt werden kann.

Nachtrag.

Die geschilderten Untersuchungen waren schon zusammengeschrieben, als ich Gelegenheit hatte, das ausführliche Sammelreferat von da Rocha-Lima: „Die Aetiologie des Fleckfiebers“ (Ergebn. d. allgem. Pathol. etc. von Lubarsch und Ostertag. Jahrg. 19. Abt. I. 1919. S. 159) zu lesen.

Leider verbietet die Rücksicht auf den zur Verfügung stehenden Raum hier eine ausführliche kritische Betrachtung der neuesten Literatur über die Aetiologie des Flecktyphus (die Literatur bis 1909 habe ich im Arch. f. Hyg. Bd. 71 ausführlich besprochen), wie ich dies in meiner Monographie „Ueber den Flecktyphuserreger“ (Diplobacillus exanthematicus) Charkow, 1914. [Russisch.] getan habe, zu geben.

Da Rocha-Limas Arbeit, worauf schon Töpfer hingewiesen hat (Dtsch. med. Wochenschr. 1917. Nr. 2), welche die sonst übliche ruhige und objektive Beweisführung vermissen läßt, zwingt mich hier auf einige von ihm besprochenen Arbeiten einzugehen, sowie auf einige ganz neue diesbezügliche russische Arbeiten, um endlich Klarheit in den Streit über die Bedeutung der „bipolaren Körperchen“ und ihre Beziehung zu dem Diplobacillus exanthematicus und andere ähnliche Bazillen zu schaffen.

Schon 1916 hat Rocha-Lima in seinen „Untersuchungen über Fleckfieber“, (Münch. med. Wochenschr. Nr. 32) zu beweisen gesucht, daß die „bipolaren Körperchen“, die zuerst 1910 Ricketts und Wilder, dann 1914 Sergent, Foley und Vialatte und erst 1916 von ihm in den Flecktyphusläusen nachgewiesen worden sind, nicht identisch sind. Meines Erachtens ist dieses Rocha-Lima nicht überzeugend geglückt. Wird der Flecktyphus durch einen Mikroorganismus hevorgerufen, so muß dieser auch in der Natur vorkommen, und so gut er aus derselben in den Menschen eindringen kann, kann er dies auch in die Laus. Weiter ist es sehr wahrscheinlich, daß sich die sogenannten „normalen“ Läuse, in denen die „bipolaren Körperchen“ nachgewiesen wurden, bei Flecktyphuskranken mit abortiver Form, die, wie die Weil-Felixsche Reaktion zeigt, nicht selten sind, infiziert haben. Die intrazelluläre Lagerung der „bipolaren Körperchen“ in dem Verdauungstraktus der Flecktyphusläuse läßt sich auch anders deuten, als dies Rocha-Lima tut, der diese intrazelluläre Lagerung für eine „parasitische

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Entwicklung derselben in den Epithelzellen" hält, aber keinen Beweis dafür, wie auch für seine Behauptung liefert, daß „durch starke Vermehrung daselbst die Erzeugung von tiefgreifenden charakteristischen Veränderungen der befallenen Zellen" hervorgerufen wird.

Das klinische Bild des Flecktyphus, wie die pathologisch-histologischen Veränderungen, die ihn begleiten, endlich Tierversuche beweisen, daß im Krankenblute für die epithelialen Zellen sehr schädliche Stoffe vorhanden sind, welche wohl im Verdauungstraktus der infizierten Laus dessen epitheliale Zellen schädigen können und dann erst, nachdem diese Zellen geschädigt sind, in diese die bipolaren Körperchen eindringen. Für die Wahrscheinlichkeit dieses Vorgangs spricht, daß in den Flecktyphusläusen, wie Töpfer, Otto und Dietrich und viele andere Forschern, wie auch Rocha-Lima selbst, festgestellt haben, auch freiliegende „bipolare Körperchen" immer vorhanden sind. Ferner spricht dafür auch, daß in den „normalen" Läusen, die wohl an Flecktyphuskranken mit abortiver Form der Krankheit oder sonstwie sich infiziert, und deshalb kein toxisches Blut bei der Infektion in ihren Verdauungstraktus bekommen haben, nur freiliegende „bipolare Körperchen" nachgewiesen werden.

Diese Erwägungen erschüttern die Angaben Rocha-Limas und beweisen, daß seine Verneinung der Identität der „bipolaren Körperchen" die zuerst Ricketts und Wilder und nachher Sergent, Foley und Vialatte in den Flecktyphusläusen nachgewiesen haben, mit den von ihm beobachteten und „Rickettsia Prowazeki" genannten, ganz unbegründet ist. Ebenso unbegründet ist seine weitere Behauptung, daß nur infolge des Nachweises der intrazellulären Lagerung der „Körperchen" in der Flecktyphuslaus dieselbe in den Vordergrund des Interesses gerückt worden sei, denn dazu haben zahlreiche Umstände beigetragen: 1) hatte, als Rocha-Lima seine Untersuchungen begann, der Weltkrieg schon lange gedauert und zur Ausbreitung des Flecktyphus nicht nur an der Front, sondern auch in Deutschland, das seit Dezennien denselben nicht mehr kannte, geführt. Auch war deshalb Prowazek vom Kriegsministerium mit der Untersuchung beauftragt worden. 2) hat schon 1914 Sergent mit seinen Mitarbeitern in seiner sehr wichtigen und interessanten Mitteilung über diese „bipolaren Körperchen" im Körper von Flecktyphusläusen berichtet und darauf hingewiesen, daß ähnliche Körperchen bereits vor ihm Ricketts und Wilder in Flecktyphusläusen und Rabinowitsch im Krankenblute und in Organen an Flecktyphus Verstorbener nachgewiesen haben; 3) hat Rabinowitsch schon 1908, also vor Ricketts und Wilder, dieselben bipolaren Körperchen im Krankenblute und in den Organen von an Flecktyphus verstorbenen Menschen und Tieren nachgewiesen und in Reinkultur gezüchtet. Besonders hervorzuheben ist, daß er bei der Betrachung früherer Untersuchungen darauf hingewiesen hat, daß „die meisten Autoren kurze, paarweise liegende Gebilde, die durch einen Spalt voneinander getrennt waren, wahrgenommen haben" (Arch. f. Hyg. Bd. 71. S. 351).

Diese ganz übersehene Tatsache, die in Zusammenhang mit den Ergebnissen meiner Untersuchungen, bei denen dieselben „bipolaren Körperchen" systematisch im Krankenblute, im Blute der infizierten Tiere und in den Organen, wie auch in den Hautexanthemen nachgewiesen und in Reinkultur gezüchtet wurden, und endlich die Mitteilung von Sergent, Foley und Vialatte mußten die Frage über die ätiologische Bedeutung dieser „Körperchen" in den Vordergrund des Interesses rücken.

Die überraschende Tatsache, auf die in dem oben beigebrachten Zitat aus meiner Arbeit hingewiesen wurde, erklärte Rocha-Lima, der dieses Zitat in seinem Aufsatze in Münch. med. Wochenschr. 1916. Nr. 39. S. 1382 zwar wiedergegeben, aber dabei die oben gesperrt gedruckten Worte — „die durch einen Spalt voneinander getrennt waren" — aus dem Zitat weggelassen hat, für eine „sonderbare Feststellung".

Und nachdem mich also Rocha-Lima falsch zitiert und den wichtigen Hinweis, daß sämtliche Autoren vor mir die „bipolaren Körperchen" gesehen, denselben aber keine Aufmerksamkeit geschenkt haben, weggelassen hat, wirft er mir vor, ich verlangte nicht einmal morphologische Aehnlichkeit, sondern begnügte mich mit der Länge und gegenseitigen Lagerung, um eine Uebereinstimmung herauszufinden. Ein Kommentar hierzu ist wohl überflüssig!

Auch in seinem Sammelreferat[1]) äußert sich Rocha-Lima bezüglich der ätiologischen Bedeutung meines Diplobacillus folgenderweise: „Der auffallenden Tatsache, daß seine leicht nachzuprüfenden Angaben trotz der intensiven bakteriologischen Erforschung des Fleckfiebers in den letzten Jahren nur von Fürth und Müller bestätigt wurden, sucht Rabinowitsch entgegenzutreten, indem er eine große Anzahl

1) Ergebn. d. allgem. Pathol. etc. von Lubarsch-Ostertag. Jahrg. 19. Abt. I. 1919.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von Feststellungen anderer Autoren ungeachtet der fehlenden Uebereinstimmung mit den seinigen zu identifizieren versucht.

Selbst die aus Wanzen von Klodnitzky gezüchteten beweglichen Bazillen und die von Ricketts und Wilder bei Läusen gefundenen Mikroorganismen (nicht züchtbare Rickettsien!) werden von Rabinowitsch für seinen Diplobacillus exanthematicus angesehen" (l. c. S. 279).

Selbst wenn nur Fürth und Müller meine Angaben bestätigt hätten, so hätte doch daraus der einzig richtige Schluß gezogen werden müssen, daß die Mißerfolge anderer Forscher auf mangelhafte Technik oder Nichtberücksichtigung meiner sämtlichen Angaben, wie das in der Tat der Fall ist, zurückgeführt werden müssen. Jedenfalls entspricht die Behauptung Rocha-Limas den Tatsachen nicht! Wie oben erwähnt, haben zahlreiche Autoren meine Angaben bestätigt, und eine Reihe von anderen hat zwar den Diplobacillus aus dem Krankenmaterial gezüchtet, aber einige Abweichungen an demselben wahrgenommen bezüglich der Form und Größe des Keimes, seiner Beziehung zur Gramschen Färbung und seiner Beweglichkeit.

Ich habe aber schon in meinen ersten Mitteilungen darauf hingewiesen, daß der Diplobacillus pleomorph ist, und daß die Färbbarkeit nach Gram, wie dies seitdem auch allgemein bestätigt worden ist, keine konstante und von zahlreichen Bedingungen abhängig ist. Auch die Behauptung einiger Autoren von der Beweglichkeit des gezüchteten Diplobacillus beruht wohl auf einem Irrtum, der in Anbetracht der intensiven Molekularbewegung desselben begreiflich ist.

Erwähnt sei noch, daß, wie Rocha-Lima angibt, Arnsheim und Petruschky, deren Arbeiten mir nicht zugänglich waren, die von ihnen gezüchteten bipolaren Stäbchen mit meinem Diplobacillus identifiziert haben. Die Behauptung Rocha-Limas, daß ich die aus Wanzen von Klodnitzky gezüchteten Bazillen mit dem Diplobacillus identifiziert habe, ist falsch, denn ich habe die Arbeit von Klodnitzky nur in meiner erwähnten russischen Monographie (Charkow 1914) besprochen und dort (S. 57) folgendermaßen mich geäußert: „Es ist mir unbegreiflich, warum eigentlich der Autor bei diesem Stäbchen so ausführlich verweilt, das er aus den zerriebenen Wanzen erhalten hat, gerade bei der Schilderung des Flecktyphus, und warum er so viel Aufmerksamkeit gerade diesem Stäbchen unter den zahlreichen Bakterien, die in den Wanzen nachgewiesen werden, geschenkt hat." Rocha-Lima hat meine Monographie weder im Text noch im Literaturverzeichnis erwähnt. Nur eine Behauptung Rocha-Limas, daß ich die bipolaren Bazillen, die Ricketts und Wilder in Läusen nachgewiesen haben und die Rocha-Lima in seinem Sammelreferate schon als „nicht züchtbare Rickettsien" anerkennt, mit meinem Diplobacillus exanthematicus identifiziere, ist richtig.

Die Beweise Rocha-Limas gegen die Identität seiner „Rickettsien" mit dem Diplobacillus erkläre ich für nicht überzeugend. Rocha-Lima weist darauf hin, „daß sie (die Rickettsia) nicht selten die Gestalt eines sich polar färbenden Bazillus annimmt, dies ist natürlich möglich, daß die diese Gestalt aufweisenden, von Ricketts sowie von Sergent beschriebenen Mikroorganismen mit der Rickettsia identisch sind. Doch ist diese nach meinen sich immer wieder bestätigten Beobachtungen nicht die typische Form, sondern beruht wahrscheinlich auf einer im Darm der Laus zuweilen eintretenden Quellung einzelner oder vieler, ja selbst der Mehrzahl der Individuen"[1]) (Münch. med. Wochenschr. 1916. Nr. 39. S. 1382).

Bezüglich der Färbbarkeit der Rickettsia nach Gram gibt Rocha-Lima (l. c. S. 1382) folgendes an: „Ferner werden in den infizierten Läusen, in welchen der Fleckfiebererreger in großen Mengen vorhanden ist, gram-positive Bakterien nur selten und dann vereinzelt gefunden"[1]), und einige Zeilen vorher weist er darauf hin, daß die Rickettsien „tiefgreifende Veränderungen der befallenen Zellen erzeugen".

Schon diese widersprechenden Angaben von Rocha-Lima zeigen den Wert seiner „Beweise", und zwar besonders, wenn man bedenkt, daß sie auf mikroskopischen Untersuchungen von Präparaten fußen, die aus zelligen Elementen mit „tiefgreifenden Veränderungen" und aus dem Darminhalte der Läuse bestehen.

In seinem späteren Sammelreferat hat Rocha-Lima viele seiner Behauptungen zurückgenommen. In seinem früheren Aufsatze (München. med. Wochenschr. 1916. Nr. 39) über die Natur der Rickettsia schreibt er: „Es ist nicht vollkommen ausgeschlossen, daß es sich um Chlamydozoen-Strongyloplasmen handelt", betont aber schon in dem späteren Sammelreferat ausdrücklich, daß die Rickettsien durch ihr Aussehen, Färbung, Widerstandsfähigkeit gegen Essigsäure, Kalilauge, Saponin

1) Von mir gesperrt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Galle, die die Protozoen zerstören, als „Mikroorganismen bakterieller Natur“ anerkannt werden müssen. Hier sei noch darauf hingewiesen, daß „die Vermehrung der Rickettsia Prowazeki durch Querteilung geschieht. Andere Entwicklungsformen konnten niemals nachgewiesen werden“; daß es unmöglich ist, „einzelne Rickettsien an ihrem Aussehen allein mit Sicherheit zu erkennen bzw. von Gewebsbestandteilen zu unterscheiden“. Daß die Rickettsia in Ausstrichen und Schnitten sich verschieden färben (l. c. S. 296—297), und daß die Unterschiede im Verhalten der Rickettsien Farbstoffen gegenüber bei den meisten Bakterien nur „quantitativer Natur sind“ (l. c. S. 294).

Alle diese Tatsachen veranlassen Rocha-Lima, sich für die „Möglichkeit“ der Identität der Rickettsia Prowazeki mit denjenigen „Gebilden“, die mit derselben „gewisse morphologische Aehnlichkeit aufweisen“, auszusprechen (l. c. S. 290). Einige Zeilen weiter aber schreibt er: „Nach den Angaben von Rabinowitsch scheint es nicht ausgeschlossen, daß dieser Forscher die fraglichen Körperchen bereits gesehen hat“; er meint aber, daß ich sie „irrtümlich mit den gezüchteten Bakterien identifiziert“ habe.

Jeder unbefangene Forscher kann sich aber überzeugen, daß ich den Diplobacillus in Präparaten von an Flecktyphus erkrankten und verstorbenen Menschen und Tieren gesehen und aus denselben in Reinkultur gezüchtet habe.

Jedenfalls hat Rocha-Lima damit aber selbst zugegeben, daß man die Rickettsien, d. h. die Diplobazillen, nicht nur in Läusen, sondern auch in dem Körper von an Flecktyphus erkrankten oder verstorbenen Menschen und Tieren nachweisen kann. Außer mir ist dies in der letzten Zeit Kuczynski, Kuczynski und Jaffe, Wolbach und Tood und einer Reihe russischer Forscher gelungen, wodurch neue Beweise für die Identität der Rickettsien mit dem Diplobacillus und für die ätiologische Bedeutung des letzteren geliefert worden sind.

Wie oft haben verdienstvolle Forscher gerade bei den Flecktyphusuntersuchungen Behauptungen aufgestellt, die widerlegt worden sind! Nicolle hat z. B. behauptet, daß für den experimentellen Flecktyphus nur der Schimpanse empfänglich sei, obgleich ich schon vorher auch die Empfänglichkeit der Meerschweinchen, Kaninchen und Ratten für die Krankheit nachgewiesen hatte. Kurz darauf haben dann Anderson und Goldberger, sowie Gavino und Girard, und nachher auch Nicolle selbst die Empfänglichkeit niederer Affen nachgewiesen und meine Befunde, ohne aber diese zu erwähnen, bestätigt. Die Behauptung Nicolles von der Filtrierbarkeit des Flecktyphusvirus und seiner Beziehung zu den weißen Blutkörperchen habe ich auf Grund experimenteller Nachprüfungen schon vor ca. 8 Jahren widerlegt; auch andere Forscher haben ihre Unhaltbarkeit dann nachgewiesen. Ebenso wurde die Angabe von Nicolle, das Flecktyphusvirus müsse in der Laus einen mindestens 5-tägigen Entwicklungszyklus durchmachen, um infektionstüchtig zu werden, was die Protozoennatur des Erregers beweist, widerlegt, desgleichen wohl die „Läusetheorie“. Es kann also nur Tatsachenmaterial wissenschaftliche Fragen entscheiden!

Die neueste Periode der Flecktyphusforschung, die seit der Veröffentlichung meiner 1. Mitteilungen (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52 u. Arch. f. Hyg. Bd. 71) beginnt, beweist die Richtigkeit meiner Aeußerungen im Arch. f. Hyg. Bd. 71. S. 349—350, auf die ich hier nur verweisen kann. Jedenfalls haben nach den neuesten Untersuchungen über den Flecktyphuserreger unter den verschiedenen Keimen sämtliche Autoren die „bipolaren Doppelkörperchen“, d. h. den Diplobacillus, wahrnehmen bzw. züchten können.

Nicolle hat den Diplobacillus in den Blutausstrichen zu selten und spärlich (in Blutausstrichen!) beobachtet, als daß er eine ätiologische Bedeutung für den Flecktyphus haben könne, und bei seiner Züchtung hat er sich auf einige Aussaaten auf gewöhnlichen Nährböden beschränkt. Die meisten anderen Autoren haben zwar den Diplobacillus züchten können, glaubten aber, auf Grund nichts besagender unbedeutender morphologischer, tinktorieller oder pathogener Abweichungen, denselben als einen neuen, von ihnen „entdeckten“ Keim deuten zu können.

So hat 1915 in Rußland Nedrigajlow an der Westfront den Flecktyphuserreger entdeckt und kurz darauf auf dem Pirogowschen Kongreß (13.—18. April 1916) in Petersburg berichtet, daß es ihm gelungen ist, aus dem Blute von 9 Flecktyphuskranken den Diplobacillus zu züchten, der vom Kranken- und Kaninchenimmunserum agglutiniert wurde, mit dem Rekonvaleszentenserum die Komplementbindung gab und für Meerschweinchen pathogen war. Bei der Demonstration von Präparaten und Kulturen, die mit den von mir gleichzeitig demonstrierten erfolgte, ergab sich aber die vollkommene Identität derselben, wie auch mit dem von Milmann demonstrierten. In der darauffolgenden Diskussion teilte dann Krjischkowsky mit, daß Sawatejew, Dawidowsky und Berestnew denselben, mit dem meinigen identischen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Diplobacillus nicht nur im Blute, sondern auch in den Fäzes, im Urin, Sputum, Rachenschleim und in Hautexanthemschnitten von Flecktyphuskranken, und zwar ausschließlich bei diesen Kranken, nachgewiesen haben, was K. unter anderem auch klinisch bei einer an Angina erkrankten Schwester der Flecktyphusabteilung habe bestätigen können, bei der aus dem Rachenschleim der Diplobacillus gezüchtet wurde und nach einigen Tagen die klinischen Erscheinungen des Flecktyphus zum Vorschein kamen. Bei einem anderen Falle wurden von einem darmkranken Arzte statt der vermuteten Typhusbazillen aus den Fäzes der Rabinowitschsche Diplobacillus gezüchtet; auch hier wurde bald der Flecktyphus konstatiert. Schließlich teilte Krjischkowsky noch mit, daß er denselben Diplobacillus aus Körper und Kot von Flecktyphusläusen gezüchtet habe. Auch Nicolle hat später experimentell die Infektiosität des Kotes von Flecktyphusläusen nachgewiesen. Alle diese Versuche haben also die ätiologische Bedeutung des Diplobacillus erneut bewiesen.

1919 haben Marzinowsky und Ponogina (Beilage z. d. Nachricht. d. Volksgesundheitskommissariats. 1919. Nr. 7—8) in Ausstrichpräparaten von 11 aus 12 Plexus chorioideus, die mit Soda versetzter Giemsa-Farbe gefärbt waren, als Flecktyphuserreger gedeutete, interzellulare und freie Gebilden gefunden. Sie waren im frühesten Stadium rund oder leicht oval und ca. 1 μ groß; später kamen lange, etwas größere, mit 1—2 Geißeln versehene, spindelförmige oder trypanosomenähnliche Formen vor. Auch Quer- und Schrägteilung in 2 Individuen und auch eine „eigenartige Vermehrung durch Zystenbildung" soll beobachtet worden sein, die auch in Schnitten des Plexus chorioideus gefunden wurde, wo „sie sich bedeutend schwächer färben", während der Kern des „Parasiten" sich nicht färben ließ. In 7 Kulturen wurden aber derartige „Parasiten" nicht gefunden.

Diese Gebilde wurden von den Autoren für Protozoen gehalten und später von Marzinowsky für Rickettsien. M. hält es aber für möglich, daß das Fleckfiebervirus filtrierbar sei, denn „der Parasit kann auch sehr groß sein, aber in einer bestimmten Periode der Entwicklung filtrierbare Formen bilden" (?).

1920 wurden von Emdin[1]) an 11 Plexus chorioidei von Menschen, unter denen 12 an Flecktyphus, 11 an anderweitigen Krankheiten gestorben waren, und 11 an Plexus chorioidei von mit Fleckfieber infizierten, während des Paroxysmus getöteter Meerschweinchen, die Marzinowskysche Mitteilung nachgeprüft, wobei in Ausstrichpräparaten wie in Schnitten an den Ependymzellen sämtlicher Fälle viele Granula und Vakuolen beobachtet wurden. Aber auch bei Tuberkulose und Unterleibstyphus mit Komplikationen wurden stellenweise so starke degenerative Veränderungen der Ependymzellen konstatiert, daß weder Granula noch Vakuolen mehr unterschieden werden konnten, die aber in den akuten Fällen sehr zahlreich waren und zu je 1—2 oder in Haufen oder aber als eine große Vakuole in den Zellen vorkamen. Somit wurden nur die gewöhnlichen Zellenbestandteile oder Abbauprodukte derselben, die in Alkohol oder Säuren sich lösten, oder mit Sudan und Tionin sich färbten, nachgewiesen, während organisierte Formen in den Ependymzellen nicht nachgewiesen werden konnten. In 2 Fällen, bei einem an Flecktyphus, dem anderen an der „Spanischen Krankheit" Verstorbenen, in denen die Präparate mit Giemsa-Farbe, der etwas mehr Soda (10 Proz.) zugesetzt war, gefärbt waren, stimmten die geschilderten Vakuolen mit von Marzinowsky beschriebenen überein. „Es kann keinem Zweifel unterliegen", sagt Emdin, „daß Marzinowsky zum Opfer der ungeschickten Bearbeitung des pathologisch-anatomischen Materials fiel" (l. c. S. 124). 1 Jahr später berichtete auf dem Bakteriologenkongreß in Moskau Marzinowsky über weitere Untersuchungen, bei denen er auch in den Kontrollfällen an nicht Flecktyphuskranken seine „Parasiten" beobachtete, bei denen er zwar eine Vermehrung auf künstlichen Nährböden sah, es ihm aber nicht gelang, die 2. Generation zu erhalten. Tierversuche wurden mit der „ersten Generation" nicht angestellt.

1920 wurden wieder 4 verschiedene „neue Parasiten" beschrieben, und zwar hat Muratowa[2]) 15 Flecktyphusgehirne, davon 4 nur histologisch, die übrigen nur in Ausstrichpräparaten untersucht und in allen „eigenartige Gebilde", und „wie zu erwarten war, deutlicher und demonstrativer in den Ausstrichen" wahrgenommen. Diese lagen teils in den epithelialen Zellen, teils, wie die Schnitte zeigten, in den perivaskulären Räumen, von denen einige ganz von diesen Gebilden angefüllt waren, wogegen sie in den Ausstrichen frei lagen und sehr polymorph, 1—2 μ bis so groß wie Erythrozyten waren. Die kleinen Formen waren kompakt punktförmig und färbten sich nach Giemsa dunkelblau oder dunkelviolett und liegen ebenfalls frei oder sind von schmaler, sich schwächer färbender Hülle umgeben und manchmal findet sich diese

1) Sammelwerk experimenteller Arbeiten über den Flecktyphus. Rostow a. D. 1920.
2) Wratschebnoje Delo. 1920. S. 392.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hüllenmasse auf einer Seite des Punktes und ist langgestreckt. Auch „Formen mit einer das Körperchen übertreffenden Größe“ und „eine große Zahl von degenerativen, zerfallenen Formen“ wurden beobachtet.

„Besondere Aufmerksamkeit erregten Formen, die an sich teilende erinnern. Sie haben meist das Aussehen eines ausgezogenen Ovals mit 2 Kernen, die wie das gymnastische Gewicht zu einer Verengung vereinigt sind; in anderen Fällen fehlt aber die Verengung und die Kerne lagern sich an den Polen“. „Schätzt man nun die erhaltenen Befunde ohne Berücksichtigung der Zahl der Untersuchungen, so müssen allerdings in Betracht gezogen werden“ — sagt Muratowa — „verschiedene Degenerationsprodukte, wie der Gewebe, so auch der Blutelemente, die unter der Wirkung des noch unbekannten Erregers sich bilden können“ (S. 393).

Muratowa ist der Ansicht, daß die Anwesenheit sich teilender Formen und ihr Nachweis in den am stärksten pathologisch veränderten Zellen die parasitäre Natur derselben erweise. Sie hält dieselben für Protozoen und identifiziert sie mit den Marzinowskyschen „Parasiten“. Doch zeigten die Präparate Muratowas auf dem bakteriologischen Kongresse in Charkow mir und anderen Mitgliedern des Kongresses, daß es sich in denselben meistenteils um Degenerationsprodukte von Zellen handelte, und daß die Teilungsfigur bipolare Stäbchen darstellt.

Den zweiten neuen „Parasiten“ hat Kritschewsky[1]) beschrieben. Dieser Autor hat von Anfang an an der bakteriellen Natur des Erregers gezweifelt, weil Nicolle und seine Mitarbeiter „durch indirekte Beweise“ erbracht (?) haben, daß „das Virus in den geformten Elementen, und, wie es scheint, in den weißen Blutkörperchen, vielleicht auch in den Erythrozyten (Anderson und Goldberger) eingeschlossen ist.“ Da aber trotzdem der Erreger bis jetzt noch nicht entdeckt ist, sucht K. denselben in der Zerebrospinalflüssigkeit. „Und in der Tat — sagt Kr. — sind unter diesen Bedingungen von mir in 4 Fällen Protozoen entdeckt worden“ (S. 371). Diese Gebilde, die er (4 von 31 Fällen) „Nicollia aggregata“ genannt hat, wurden nur in Fällen mit stark oder schwächer ausgebildeter Pleozytose „entdeckt“. Bei der Nachprüfung der Ausstrichpräparate aus dem abzentrifugierten Niederschlage fand er „zwei, durch keinen Uebergang zueinander verbundene Formen“, konnte aber nicht feststellen, ob es sich um „Individuen verschiedenen Geschlechts“ handelte. „Alle übrige Nicollia, obgleich sie bei der oberflächlichen Betrachtung als einander ganz fremde Organismen erscheinen, sind in der Tat durch allmähliche Uebergänge miteinander verbunden. Die Nicollia stellen Gebilde dar, die am häufigsten in einem Diameter der Länge nach gestreckt sind, viel seltener sind große Formen von ihr, ca. 1,8 μ Größe; sie sind von einer deutlich ausgebildeten Hülle umgeben“ (S. 372). Kritschewsky will in denselben Ausstrichpräparaten auch die Teilung seiner „Protozoa“ beobachtet haben und sagt: „bei der Teilung, die perpendikular dem längeren Durchmesser der Zellen geschieht, wird der Kern zuerst verdickt, schwillt an und wird dann der Länge nach zur Hälfte geteilt. Meistenteils fängt die Hülle gleichzeitig mit dem Protoplasma sich einzuschnüren an, schnürt sich mit dem Auseinandergehen beider Kernhälften ab und teilt sich zusammen mit den letzteren; endlich erscheint die Hülle in der Mitte der Zelle, und damit ist die Teilung vollendet. Manchmal wird die Kernteilung von der Teilung des Zellenkörpers nicht begleitet“[2]).

Es hätte mich zu weit geführt, auf die Ausführungen Kritschewskys ausführlich einzugehen. Er kommt dabei zu dem Schlusse, daß seine „Nicollia“ der Erreger des Flecktyphus sei. Dann aber schreibt er: „Nachdem ich die von mir gefundenen Protozoa beschrieben und dieselben mit den aus der Literatur bekannten Mitteilungen von Protozoen im Flecktyphuskörper verglichen habe, muß ich schließen, daß die Nicollia das einzige reale Protozoon darstellt, das bisher beim Flecktyphus beschrieben worden ist“ (S. 373). Er glaubt als erster auf die Möglichkeit „einer Umwandlung von Protozoa in bakterielle Formen“ (Strongyloplasma Lipschütz) hingewiesen zu haben.

Auch dieser Autor hat demnach den bipolaren Bacillus wahrgenommen und auch, wie Muratowa und zahlreiche andere, die seit 1880 Protozoen gesucht haben, den Diplobacillus als Teilungsformen von Protozoen gedeutet, und zwar ungefähr in derselben Art und Weise.

Der letzten Mitteilung stelle ich die sehr interessanten und wertvollen Untersuchungen von Stefko[3]) gegenüber, der bei 21 Flecktyphuskranken vom 9.—14. und späterem Krankheitstage zerebrospinale Flüssigkeit zur Untersuchung benutzt hat und

---

1) Wratschebnoje Delo. S. 370.
2) Meine Sperrschrift.
3) Wratschebnoje Delo. 1920. Nr. 12—15. S. 405.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in 8 Fällen, in denen diese Flüssigkeit am 9.—10. Krankheitstage entnommen war, im mikroskopischen Bilde keine Abweichungen konstatieren konnte, denn es wurden nur spärliche Lymphozyten in der Flüssigkeit gefunden. „Ein ganz anderes Bild haben wir", sagt Stefko, „in der Mehrzahl der Fälle in den letzten Tagen der zweiten und im Anfange der dritten Woche (13 Fälle). Hier entdeckt die Untersuchung das Bild einer Pleozytose".

Die Zahl der Lymphozyten bewegt sich zwischen 6—20 bis 60—70 im Kubikzentimeter, wobei die kleinen Formen prävalieren. Die polynukleären neutrophilen Leukozyten sind sehr selten (in 2 Fällen) und in spärlicher Zahl, und zwar 2—3 bzw. 5—10 in 1 ccm der zentrifugierten Flüssigkeit. Im Protoplasma der Leukozyten und anderer zelliger Elemente, zum Teil auch in deren Kern, hat Stefko die Anwesenheit von „kleinen Teilchen verschiedener Form" konstatieren können. „Derartige Körnchen sind von Knjaskow in den Leukozyten aus dem Blute bei krupöser Pneumonie, parenchymatöser Nephritis und besonders beim Flecktyphus beschrieben worden."

„Als beständige Erscheinung" bezeichnet Stefko die Anwesenheit vakuolisierter und plasmatischer Zellen. „Die plasmatischen Zellen besaßen nicht immer einen gut ausgebildeten Kern. Häufig konnte man in ihren Kernen degenerative Veränderungen bis zur Karyorhexis bemerken. Dasselbe kann man von den endothelialen Zellen sagen, die häufig so stark ihr äußeres Aussehen verändert haben, daß man manchmal nur schwer ihre Herkunft erkennen konnte. Besonders stark sind die Veränderungen im Kern, bis zum Zerfall desselben." Diese Feststellungen Stefkos erklären hinreichend sämtliche im Laufe der Jahre veröffentlichten „Entdeckungen" von in den Zellen eingeschlossenen Gebilden, die als Flecktyphuserreger gedeutet und zu den Protozoen gerechnet worden sind.

Die zerebrospinale ganz klare Flüssigkeit hat keine Wirkung auf Meerschweinchen, trübe, zahlreiche Formelemente enthaltende Flüssigkeiten haben in 2 Versuchen eine „Temperaturerhöhung, die 7—8 Tage anhielt", hervorgerufen. Auch Agglutinine für Proteus X19 im Titer bis 1:1000 und höher wurden nur in Flüssigkeiten mit zahlreichen Formelementen nachgewiesen. Ihr Erscheinen bringt Stefko mit Zellzerfall in Zusammenhang, „wenn die Antitoxine frei werden und sich anhäufen." Wahrscheinlicher aber beginnt wohl die Antikörperbildung mit dem Erscheinen des Erregers in der Zerebrospinalflüssigkeit, das zu einer Zeit stattfindet, wo die Veränderungen im Zentralnervensystem vollendet sind. Dafür sprechen auch die Injektionsversuche mit der Zerebrospinalflüssigkeit, die Stefko zum Schutz vor dem Flecktyphus an Menschen ausgeführt hat. Schon am 5. Tage nach der Injektion hat er in 2 Fällen Agglutinine für den Proteus X 19 im Titer bis 1:2000 nachgewiesen, obgleich vor der Injektion in beiden Fällen die Weil-Felixsche Reaktion negativ war. Bemerkenswert ist, daß in 2 anderen Fällen die Weil-Felixsche Reaktion nach den Injektionen wie auch vor denselben negativ war.

Im Zusammenhang mit den letzten Beobachtungen muß die von Silberberg erwähnt werden, der 1912 auf dem bakteriologischen Kongresse in Moskau mitgeteilt hat, daß er aus 3 von 16 in verschiedenen Krankheitsperioden den Flecktyphuskranken entnommenen und untersuchten zerebrospinalen Flüssigkeiten „einen Micrococcus mit ungefärbtem mittleren Teil" gezüchtet habe, der in seinen morphologischen Eigenschaften „viel Gemeinsames, richtiger Identisches, mit den Eigenschaften der Stäbchen, die von anderen Autoren beschrieben worden sind hat", und sich für Meerschweinchen und Kaninchen virulent erwiesen hat. Auch hier handelt es sich wohl bei den aus der Zerebrospinalflüssigkeit gezüchteten Mikroorganismen um bipolare Stäbchen.

Die 3. „Entdeckung" ist die von Rosenberg[1]). Sämtliche beim Flecktyphus im Blute nachgewiesenen und aus demselben gezüchteten Bakterien führt er auf Mischinfektionen zurück, denn, wie er in der Einleitung zu seinem Aufsatze schreibt, „wird der Umstand ganz außer Acht gelassen, daß das Blut selbst eines gesunden Menschen nicht immer steril ist, und daß eines durch Hunger, Skorbut, Darmkatarrh erschöpften Menschen, der eine so schwere Infektionskrankheit, wie den Flecktyphus überstanden hat, umsomehr eine Menge von Bedingungen für das Eindringen und die Vermehrung von Mikroorganismen, die mit dem spezifischen Erreger des Flecktyphus nichts Gemeinsames haben, bietet" (S. 24 und 25).

Veranlaßt zu diesen Erwägungen war Rosenberg durch den ungemein reichen und verschiedenartigen Bakterienbefund, den er bei seinen Untersuchungen vorgefunden hat.

Möglicherweise haben die Zustände während seiner Untersuchungen 1917—1919 in Petersburg auf die Untersuchungsergebnisse eingewirkt, doch hat gewiß auch

1) Sammelwerk der Tagung über Flecktyphus in Petersburg. 16—19. Febr. 1920. S. 24.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Untersuchungstechnik des Autors an den Ergebnissen Schuld. Außer dem Blute sind der bakteriologischen und bakterioskopischen Untersuchung auch verschiedene Se- und Exkrete, zum Teil nach verschiedenartiger Vorbehandlung, unterzogen worden. Die Aussaaten waren auf gewöhnlichen Nährböden, auf Hatas Nährboden mit Eisenfeilspänen und auf sauren Nährböden, die zur Züchtung von Protozoen benutzt werden, gemacht worden.

Von 380 so untersuchten Fällen sind in 120 oder 31,6 Proz. (!) verschiedene Bakterien gezüchtet worden, und zwar in 30 Fällen der Diplobacillus Rabinowitschs, in 30 Fällen, darunter Bronchopneumonien, ein „eigenartiger" Micrococcus, der „bei 1000-facher Vergrößerung dem Meningococcus ähnelte"; in 40 Fällen stark bewegliche Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe, und in 20 Fällen sind aus den durch Biopsie gewonnenen Hautstückchen und den Blutgerinnseln anaërobe, Sporen bildende, bewegliche Stäbchen gezüchtet worden. Durch Krankenserum wurde der Diplobacillus in Verdünnungen bis 1:400 und vom Flecktyphus-„Standardserum", das den Proteusbacillus X 19 in einer Verdünnung von 1:500 agglutinierte, in der Verdünnung bis 1:1000 agglutiniert, was beim Micrococcus durch Krankenserum in der Verdünnung 1:20—1:40 der Fall war. Die Stäbchen der Typhus-Coli-Gruppe sind auch von den Typhus-Paratyphus A- und B-Immunseren mit Titer bis 1:12000 nur in Verdünnungen nicht über 1:50 agglutiniert worden.

Bemerkenswert ist die Tatsache, daß trotz der gewöhnlichen zur Aussaat benutzten Nährböden der Diplobacillus in 30 Fällen gezüchtet worden ist. Rosenberg betont ausdrücklich, daß sämtliche Kranke stark erschöpft waren, glaubt dadurch den Reichtum an Mikroben erklären und die ätiologische Bedeutung sämtlicher in Abrede stellen zu können.

Bei den weiteren auf Protozoen gerichteten Untersuchungen benutzt er Absonderungen der Haut nach Einführung von Mullstückchen in dieselbe nach Afanassjew, das Reizserum aus abgeschabten Hautstellen, Hautblasenflüssigkeit, Blut, durch Biopsie gewonnene Hautstückchen und Leichenorgane. In sämtlichen Fällen konnte er in mit Panchrom und Giemsa-Lösung gefärbten Präparaten ovale und rundliche Körperchen, die paarweise mit dem Längsdurchmesser einander lagern, manchmal die Form von gymnastischem Gewicht haben, wahrnehmen. Die größeren Körperchen sind 1,5—2 μ lang, die ovalen 1—1,5 μ breit.

In der Leukozytenschicht des Zentrifugates vom zitrierten Krankenblute vermehrten sich die Körperchen im Thermostaten bis zum 7.—8. Tage. Sie finden sich besonders in der Gehirnrinde, dann folgen Leber, Lungen, Nieren, Milz, Knochenmark und Nebennieren, wo sie meist intrazellulär, weniger frei liegen.

„Die Kultur gelingt sehr schwer auf schwach geronnenem menschlichen Transsudat mit Beimengung von Leukozyten, menschlichem Blute und des Filtrates der Kultur von Proteus X 19. Der Nährboden wird durch Zusatz von menschlichem Gehirnbrei verbessert" (S. 35). Auf diesem Nährboden zeigt sich das Wachstum erst am 6. Tage deutlich, und zwar besonders scharf in tiefen Schichten am 12.—16. Tage nach der Aussaat. Die Kulturen halten sich nicht, und die Ueberimpfung gelingt nicht weiter als bis zur 2. Generation. Bei einer Vergrößerung von 1:2000 betrachtet, sind die Pole der Körperchen stärker gefärbt als die Mitte und durch schwach gefärbte Streifchen quergeteilt[1]); sie werden nicht durch Alkohol, schwache Säuren und Alkalien, Chloroform, Benzin, Aetheralkohol, Toluol, Xylol und Azeton zerstört und durch Ptyalin, Pankreatin und Pepsin nicht verdaut. Bei der ip. Injektion riefen Kulturen dieser Körperchen bei Meerschweinchen nach 6—8-tägiger Inkubation bis 16 Tage dauerndes Fieber, Appetitlosigkeit, Mattigkeit hervor und die Haare waren gesträubt.

Solche Körperchen wurden im Gehirn und den Organen von an Dysenterie, Tetanus, spinaler Meningitis und Septikämie Verstorbenen nicht nachgewiesen. In Ausstrichen von an Flecktyphuskranken gefütterten Läusen fanden sich in epithelialen Zellen ähnliche winzige Gebilde, die Rosenberg als mit Rickettsia Prowazeki identisch betrachtet und die in der ersten Krankheitsperiode bis zum 6. Tage wahrnehmbar sind und sich in roten Blutkörperchen, Endothelien der Kapillare und den Nebennieren finden. Erst nach dem 6. Tage sollen sie sich in den inneren Organen durch Zystenbildung, Sporulation und auch durch direkte Teilung vermehren und dort wahrnehmbar werden.

Aus der Schilderung Rosenbergs und den beigefügten Abbildungen geht hervor, daß es sich bei seinen „Körperchen" meist um die verschiedenen Formen

1) Meine Sperrschrift.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des polymorphen bipolaren Diplobacillus, teils aber um zellige Degenerationsprodukte gehandelt hat.

Nach Rosenberg handelt es sich bei der Flecktyphusinfektion um eine Ansiedlung von Proteus-Stäbchen im menschlichen Körper, die aller Wahrscheinlichkeit nach entweder auf Symbiose oder Aktivierung des Erregers des Flecktyphus durch den Proteus beruht (S. 37).

Die vierte „Entdeckung" hat Barikin 1920 gemacht, der seitdem mehrere widersprechende Mitteilungen darüber veröffentlicht hat und dabei schon längst Bekanntes als neu hinstellte.

Seit Fränkels Entdeckung spezifischer pathologisch-anatomischer Veränderungen der kleinen Gefäße beim Flecktyphus im Zusammenhang mit der Entdeckung der Weil-Felixschen Reaktion ist schon oft darauf hingewiesen worden, daß durch diese Veränderungen in keiner Beziehung zur Aetiologie des Flecktyphus stehende Bakterien in die Blutbahn gelangen können. Aus diesem Grunde haben zahlreiche Forscher immer wieder geraten, die bakteriologischen Untersuchungen in den ersten Krankheitstagen vorzunehmen. Trotzdem behauptet Barikin diesbezüglich eine Priorität und betont, daß er diese Ansicht schon seit 1918 vertreten habe.

Obgleich diese Tatsachen schon längst vor ihm bekannt waren, hat er doch von dem Blute von 127 Flecktyphuskranken aus verschiedenen Krankheitsperioden und Ausstriche vom Gehirn, Leber und Milz von 7 Flecktyphusleichen und von 12 Plexus chorioidei mikroskopisch untersucht und in dem Leichenmateriale ausnahmslos Bakterien von verschiedener Größe und Form erhalten, in der Regel aber sehr wenig und recht schwer. Aehnlich war es beim Plexus chorioideus von 12 Flecktyphuskranken; das Blut der Flecktyphuskranken hat sich bei direkter Mikroskopie in 28 von 127 untersuchten Fällen als durch Bakterien infiziert ergeben (l. c. S. 182), deren Natur nur schwer zu beurteilen ist.

Bemerkenswert ist aber, daß er bei den bakteriologischen Untersuchungen des Blutes von 27 Flecktyphuskranken, die er „zur Orientierung" ausgeführt hat, in 9 Fällen, d. h. 33 Proz., „Kolonien von Staphylo-, Strepto- und Diplokokken, Stäbchen vom Typus Rabinowitsch, Plotz u. a. gesehen hat (S. 183), sowie, daß er in keinem einzigen der 23 Fälle von Flecktyphus, in denen das Blut am 2.—4. Krankheitstage mikroskopisch untersucht wurde, wie auch bei keiner einzigen mikroskopischen Untersuchung von Blut- und Organausstrichen von 151 Meerschweinchen, die nach Infektion mit Krankenblut erkrankten, irgendwelche Bakterien gefunden, und daß auch bei der bakteriologischen Untersuchung von 22 in den ersten Krankheitstagen entnommenen Blutproben und im Blute und den Organen von 25 Flecktyphusmeerschweinchen ausnahmslos negative Resultate erhalten hat.

Die von Barikin gezogenen Schlußfolgerungen stimmen aber mit diesen kategorischen Behauptungen nicht überein, denn er schreibt: „Das Blut und die Organe flecktyphuskranker Menschen und Tiere sind wenigstens in den ersten Tagen der Infektion und bei der Aussaat auf gewöhnliche Laboratoriennährböden in der Regel steril" (l. c. S. 185).

Hätte Barikin auch andere für ihn geeignetere Nährböden benutzt, so wären die Ergebnisse ganz andere geworden. Trotzdem behauptet Barikin, daß alle aus dem Blute Flecktyphuskranker gezüchteten Bakterien auf sekundäre Infektion zurückzuführen sind! Gegen diese Behauptung sprechen auch die zahlreichen Beobachtungen von Dawidowsky[1]), die er in seiner ausgezeichneten Monographie zusammengestellt hat, und die bewiesen haben, daß „trotz des häufigen Eindringens der einen oder anderen Mikroorganismen in das Blut doch die bakteriologische Untersuchung (nicht nur während des Lebens, sondern auch auf dem Sektionstische) in der Mehrzahl der Flecktyphusfälle[2]), besonders aber in der akuten Periode, ein negatives Resultat hat. In schweren Fällen (Fälle 10, 14, 16, 19, 21, 25) war das Blut steril (soweit man selbstverständlich bei der Benutzung der gewöhnlichen Untersuchungsmethoden von Sterilität sprechen kann" (l. c. S. 316).

Dieser, auf zahlreichen und sorgfältigen Untersuchungen fußenden Feststellung Dawidowskys gegenüber befremden die Angaben Barikins über den systematischen Nachweis verschiedenartiger Bakterien in sämtlichen zahlreichen Fällen (über 100 Flecktyphuskranke und 151 Meerschweinchen) ohne Ausnahme und in mikroskopischen Präparaten sehr.

Trotzdem glaubt aber Barikin immer noch bewiesen zu haben, daß der Flecktyphuserreger nicht zu den Bakterien gehört. Bei neuen Untersuchungen seiner alten

1) Die pathologische Anatomie und Pathologie des Flecktyphus. Moskau 1920.
2) Meine Sperrschrift.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Präparate will er dann auch andere winzige Gebilde gefunden haben, und zwar in Blutausstrichpräparaten aus den ersten Krankheitstagen (2—4) von 23 Fällen; in allen nach Giemsa und anderen Methoden gefärbten Präparaten seien bei der zweiten Durchmusterung „besondere winzige Gebilde" gefunden worden, die von Barikin näher beschrieben worden sind. Er will in zweifelhaften Fällen schon in den ersten Krankheitstagen nach den Blutausstrichen mit Sicherheit die Diagnose der Krankheit gestellt haben. „Außer diesen Gebilden habe ich — sagt hier Barikin — im Blute mikroskopisch weder Protozoen noch Bakterien nachgewiesen (l. c. S. 187)". Dieselben Gebilde will er auch im Blute und in den Organen der Flecktyphusmeerschweinchen nachgewiesen haben, aber nicht in den Kontrolluntersuchungen. Obgleich Barikin im weiteren Verlaufe der Krankheit zwar in ca. 30 Proz. der Fälle „verschiedene Bakterien und Gebilde, die an Protozoen erinnern" beobachtet hat, hält er doch die ersteren für Erreger der Nebeninfektionen, die zweiten aber für Produkte der Zellveränderung bei hoher Temperatur und durch Vergiftung mit dem Flecktyphusvirus (S. 188). Wenige Zeilen später schreibt er aber: „Im Verlaufe der ganzen Fieberperiode des Flecktyphus zeigt die mikroskopische Untersuchung in sämtlichen von uns untersuchten Fällen sowohl beim Menschen wie auch bei Meerschweinchen (während des Lebens und nach dem Tode) im Blut und in den inneren Organen unsere Gebilde"[1]) (S. 188). Bei infizierten Meerschweinchen will er sie auch in den letzten 1—2 Tagen der Inkubation vor dem Temperaturaufstieg beobachtet haben. Die Menge dieser Gebilde wächst von den ersten Tagen der Infektion, erreicht ihr Maximum am Ende der Erkrankung[1]) und nimmt schnell vor der Krisis ab. Im Blute sollen sie im allgemeinen spärlich sein und sich manchmal erst nach 5—6 Std. andauernden und sorgfältigen Mikroskopierens der Blutasstriche[1]) eines Kranken finden (S. 188).

Diese Gebilde sind nach Barikin folgende: jung, 0,2—0,4 μ lang und 0,2—0,3 μ breit, rund oder schwach zugespitzt, haben Chromatinanhäufungen an einem oder an beiden Polen. Die reiferen Formen sind bisquit- oder stäbchenförmig, mit verdickten Enden, färben sich an den Enden intensiv und in dem mittleren Teil blaß. Sie sind als Teilungsstadium der jungen Formen zu betrachten; vor Beendigung des Prozesses bleiben die Tochterindividuen durch den blassen, verdünnten mittleren Teil miteinander verbunden[1]). Bedeutend seltener sind ziemlich plumpe, ovoide Gebilde mit Chromatin an einem oder beiden Enden und mit sich schwach färbender Mitte[1]). Diese Formen betrachtet Barikin als Involutionierte oder Plasmolysierte; sie sind ca. 1 μ lang und 0,3—0,4 μ dick (l. c. S. 188), unbeweglich, bilden keine Sporen und Kapseln und färben sich nicht nach Gram, nach Giemsa aber rot. Sie liegen im Blute frei; nur in 2 Fällen fand sie Barikin im Protoplasma der Neutrophilen. In den inneren Organen liegen sie auch außerhalb der Zellen, und nur im Plexus chorioideus kommen sie in der Regel neben freien, die sich manchmal hier in ungeheuren Mengen anhäufen, auch in den Ependymzellen vor. Dieselben Gebilde hat Barikin auch in Läusen beobachtet, die in ca. 70 Proz. im Darme Gebilde enthalten, die morphologisch mit den im Blute und Organen von mit Flecktyphus infizierten Menschen und Meerschweinchen gefundenen identisch sind und teils frei im Darminhalte, „teils in epithelialen Zellen, die in diesen Fällen eigentümliche, zum Tode und Zerfall der Zellen führende Veränderungen zeigen" (S. 190). An einer früheren Stelle desselben Aufsatzes aber sagt Barikin unter anderem:

„Die Aufsuchung des Flecktyphuserregers wird dadurch erschwert, daß gute Schnitte aus denselben nur selten gelingen, und beim Abpräparieren der einzelnen Organe, wie z. B. des Darms, geraten unvermeidlich Fetzen anderer Organe in die Präparate, am häufigsten aus den Geschlechtsorganen mit dem Fettkörper. Wie im 1.. so auch im 2. Falle kommen im Ueberfluß Elemente vor, die im Sinne ihrer nicht histogenen, sondern Mikrobennatur zu Irrtümern führen können: gelbe Körper, Elemente der Spermagonie und andere, die verschiedenes Aussehen und Größe (im Mittel ca. 1 μ) haben, nach Giemsa sich rot färben, manchmal von einem regelmäßigen blauen Saume umgeben und rundlich, länglich, zugespitzt, ausgezogen und gebogen sind" (l. c. S. 180).

Ferner hat Barikin bei seinen neuen Untersuchungen an Läusen wegen der angeblichen Schwierigkeit der Erforschung der Darmflora von direkt von Flecktyphuskranken entnommenen Kleiderläusen „eine besondere Methodik" gewählt, die darin bestand, daß die Kleiderläuse von sicher gesunden Menschen gesammelt wurden, was übrigens schon 1916 Rocha-Lima und Töpfer getan haben.

Weiter schreibt Barikin, daß von 17 Meerschweinchen, welche durch Bisse infiziert waren, von 2—5 Läusen, die 1—2 Tage vorher einmal an Flecktyphus gefüttert

1) Meine Sperrschrift.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

worden waren, 12 Tiere an verschieden schwerem Flecktyphus erkrankten, die alle während des Fieberanfalles mikroskopisch im Blute die von ihm beschriebenen Gebilde enthielten (S. 191). Dagegen erklärt Barikin in demselben Sammelwerke[1]) (S. 100), daß die Versuche, Läuse an Meerschweinchen zu füttern oder sie durch Fütterung mit Meerschweinchenblut längere Zeit zu erhalten, bis jetzt mißlungen sind. Vielmehr gehen nach seinen Versuchen Läuse, wenn auch nur einmal an Meerschweinchen gefüttert, sogar schneller zugrunde als halb hungrige, und zwar gewönlich am 1., 2. oder 3. Tage nach der Fütterung[2]), wohl weil die Läuse nicht imstande sind, das Meerschweinchenblut zu verdauen, denn es bleiben nach Barikins Angaben im Darme der Läuse, die sich mit Meerschweinchenblut vollgesaugt haben, Massen dieses Blutes unberührt, ballen sich in feste Klümpchen zusammen und werden nicht resorbiert[2]), während Menschenblut schon nach einigen Stunden im Läusedarme in formlose, allmählich resorbierbare Massen zerfällt.

Daß trotzdem an Meerschweinchen infizierte Läuse, die nach der Infektion 1 bis 2 Tage im Thermostaten gehalten wurden, von 17 Meerschweinchen 12 durch Bisse infiziert haben, erregt Verwunderung und ebenso Barikins Befunde seiner „Gebilde" im Blute dieser „infizierten" Tiere.

Als Beweis dafür, daß seine von ihm genannten „Mikrobien" Gebilde, die nicht mit den Rickettsien identisch sind, führt Barikin folgendes an: „1) Die mittlere Größe unserer Gebilde im Blute und in den Organen der flecktyphuskranken Menschen und Meerschweinchen (0,4—0,7 μ) übertrifft etwas die mittlere Größe der Rickettsia (0,3—0,6) in den Läusen. — 2) Unsere Gebilde sind plasmolysierte ca. 1 μ groß, was bei Rickettsia nicht bekannt ist. — 3) Im Darme einmal mit Flecktyphusblut gefütterten Läusen finden sich unsere Gebilde 1—2mal 24 Std. nach der Fütterung und können schon in dieser Zeit durch ihren Biß den Flecktyphus auf frische Meerschweinchen übertragen, während die Rickettsia nach den Versuchen Rocha-Limas im Läusedarme erst am 4. Tage nach der infektiösen Fütterung gefunden werden und die Läuseemulsion erst von diesem Tage ab für Meerschweinchen infektiös wird" (S. 192).

Diese Unterschiede entsprechen den Tatsachen nicht, wie aus dem großen Sammelreferat Rocha-Limas und den eigenen Angaben Barikins hervorgeht, der ja selbst schreibt, daß für die angeführten Unterschiede eine Erklärung nicht gefunden worden sei und daher von einer Identität mit den Mikroben nicht gesprochen werden kann (S. 192).

Barikin nennt seine Gebilde Mikrobion typhi exanthematici und erklärt weiter, daß die Morphologie dieses Mikrobion für die Zugehörigkeit desselben zu den Bakterien sprechen muß (S. 192).

Die Versuche Barikins, das Mikrobion auf den verschiedensten Laboratoriumnährböden aërob und anaërob zu züchten, haben bis jetzt keine befriedigenden Resultate geliefert. Von dem Ausgesäten, von 43 Menschen und 27 Meerschweinchen stammenden Flecktyphusblute konnten nur in 8 Fällen eine „gewisse Anreicherung" der Mikrobien im Nährboden beobachtet werden. Wie er diese nicht wahrnehmbare „gewisse Anreicherung" des „Mikrobion" festgestellt hat, macht er keine Angaben.

Aus den Angaben Barikins ergibt sich demnach, daß er nur Bekanntes wieder beobachtet hat, nämlich daß die bipolaren polymorphen Gebilde, die sich nach Giemsa usw. färben, keine Kapseln und Sporen bilden, unbeweglich und für Meerschweinchen pathogen sind und mit den Rickettsien und dem Diplobacillus exanthematicus vollkommen übereinstimmen. Neben dem von ihm abgebildeten Diplobacillus hat Barikin auch andere Gebilde beobachtet, die Degenerationsprodukte geschädigter Zellen sind.

Die spezifischen pathologisch-anatomischen Veränderungen an den Gefäßen, durch welche die verschiedenen Bakterien in die Blutbahn Flecktyphuskranker gelangen sollen, sind auch noch nicht bewiesen, denn selbst bei den sehr schweren, zur Sektion gekommenen Fällen von Dawidowsky u. a. sind die Aussaaten auf gewöhnlichen Nährböden steril geblieben, oder es wurde, wie in den schweren klinischen Fällen Rosenbergs, eine Ueberschwemmung des Blutes mit meinem Diplobacillus wahrgenommen.

Wäre immer von den Forschern zur Züchtung des Erregers ein entsprechender Nährboden benutzt worden, so hätten sie, ebenso wie ich, den Diplobacillus aus dem Flecktyphusblute isolieren können, wie die weiteren Untersuchungen Barikins und besonders diejenigen von Kritsch[3]) bewiesen haben, welche einen Nährboden

1) Epidemisches Sammelwerk. Rostow a. D. 1921. S. 326.
2) Meine Sperrschrift.
3) Autoref. des VI. Bakteriol.- u. Epidemiol.-Kongresses in Moskau. 3.—8. Mai 1922.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

unter Zusatz von Gehirn- bzw. Milzbrei benutzt, den schon vor ca. 5 Jahren Rosenberg gebraucht hat.

Neu war bei Kritsch die Anwendung mechanisch zerkleinerter Gehirn- und Milzstückchen von flecktyphuskranken Menschen und Tieren, die auch als Nährboden und Impfstoff dienten.

Der Nährboden wurde von Kritsch mit Aszitesflüssigkeit, solcher von durch Pankreatin verdauter gesunder Organe oder mit Kalinkins Tafelwasser (Gemisch von Salzen, das der Ringerschen oder Lockschen Lösung entspricht) hergestellt, und die Aussaaten wurden mit Paraffinöl bedeckt. Unter diesen Bedingungen erschienen die Mikrobion-Kulturen bei 37° nach 20 Tagen. Ueberimpfungen gelingen auf Gehirn und Milzagar, wo das Mikrobion isolierte Kolonien bildet, aus denen die weiteren Ueberimpfungen gelingen. Zur Zeit ihres Vortrages konnten in 10 von 12 Fällen von Menschen und in 5 von 6 Fällen aus Meerschweinchen die Kulturen erhalten werden. Nach ip. Injektion von $^1/_5$—3 Oesen der Kultur trat bei Meerschweinchen nach 4—14-tägiger Inkubationszeit 5—12-tägiges Fieber auf. Mit der Kultur wurden 4 Passagen durch Meerschweinchen ausgeführt, von denen ein Teil nach der Infektion gesund blieb (von 18 infizierten Tieren erkrankten 12). Im verlängerten Mark erkrankter Tiere wurden spezifisch pathologisch-anatomische Veränderungen gefunden.

Nach Kritsch ist das gezüchtete Mikrobion, das in 85 Proz. aus der Milzemulsion der Flecktyphusleichen isoliert wurde, ein fakultativ-anaërober Mikroorganismus, der bei 37° T° und in 10 Tagen bis 3 Wochen wächst, stark polymorph (von kleinem Coccus bis zu Stäbchen) ist und parallel und palisadenartig gelagert ist. Nach anfänglicher Vermehrung in Milzemulsion kann er auf feste Nährböden, Schalen, schrägen Agar, die reich an Nährmaterial und aus Milz und Gehirn bereitet sind, überimpft werden. Nicht alle Kulturen wachsen weiter, sondern einige erschöpfen sich scheinbar schnell, andere aber entwickeln sich nach Anpassung an die Nährböden aus gekochten Organen gut. Zwischen dem Wachstum der Kultur und ihrer Infektiosität für Tiere bestehen folgende Beziehungen: bei gutem Wachstum auf dem Nährboden zeigt sich im Experiment das deutliche klinische Bild des Flecktyphus mit den entsprechenden histologischen Organveränderungen; bei schwachem Wachstum sind das klinische Bild (forme fruste) und die histologischen Veränderungen weniger ausgesprochen.

Weiter äußerten sich Barikin und Kritsch über das gezüchtete „Mikrobion" auf dem Kongresse folgendermaßen: In jungen Entwicklungsstadien besteht die Kultur hauptsächlich aus kokkenartigen Gebilden (Zerfallsprodukte zur Aussaat benutzten Organbreies? Verfasser), die mit seltenen Ausnahmen sich nicht nach Gram färben. Dann erscheinen Doppelformen, Ovoide, polare Stäbchen und faßartige Formen; die reife Kultur färbt sich teilweise oder ganz nach Gram. Die Mikroben sind 0,4—1 μ und mehr groß und unbeweglich. Ueberimpfungen aus der Stammkultur gelingen auf festen und flüssigen Nährböden unter aëroben und anaëroben Bedingungen schon nach 1—2 Tagen (l. c. S. 27).

Beim Vergleiche dieser Schilderung der Kultureigenschaften des „Mikrobions" mit den vorausgegangenen Beschreibungen der Kultur meines Diplobacillus ist die vollkommene Uebereinstimmung augenfällig. Es muß daraus der Schluß gezogen werden, daß das „Mikrobion" ebenso wie die „Rickettsien" und sämtliche anderen, von verschiedenen Autoren in den Flecktyphusobjekten beobachteten und aus denselben gezüchteten „bipolaren Körperchen" mit dem Diplobacillus identisch sind und den Flecktyphuserreger darstellen, der daher mit Recht als Diplobacillus exanthematicus bezeichnet werden kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber aktive Milzbrandimmunisierung.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag (Vorstand: Prof. Bail).]

Von Dr. **Sukeyasu Okuda.**

Die Immunität gegen Milzbrand, eine der am frühesten planmäßig erzeugten, unterscheidet sich in einer Reihe von Eigenschaften von jener als bakterizid bezeichneten Immunität, die gegen Cholera oder Typhus leicht herzustellen ist. Niemals hat man bei den immunen Tieren bakterizide Wirkungen getroffen, die in das Schema Ehrlichs passen, oder die auch nur jenen Grad erreichen, der schon im normalen Kaninchenserum durch die Wirkung der Blutplättchen vorhanden ist. Auch als bakteriotrop und antitoxisch kann diese Immunität nicht angesprochen werden. Ihre Erzeugung ist mit toten Kulturen oder Extrakten solcher unmöglich; nur die schon von Pasteur eingeführte Behandlung mit lebenden, abgeschwächten Erregern liefert brauchbare Ergebnisse.

Von diesen Besonderheiten ausgehend, hat Bail auf Grund einer eigenen Vorstellungsweise die Milzbrandimmunität zu erklären versucht. Er nahm an, daß bei jeder echten Infektion sowohl der infizierte Makroorganismus als auch der infizierende Mikroorganismus in einen abnorm gereizten, krankhaften Zustand geraten müsse. Denn der Makroorganismus setzt vermöge seiner Lebensundurchdringlichkeit [vgl. Bail, Das Problem der bakteriellen Infektion. Leipzig (Klinkhardt) 1911] dem Bakterium seine Widerstandskräfte entgegen, die uns wahrscheinlich erst zum kleinsten Teil bekannt sind. Diese erzeugen einen Reizzustand des Bakteriums, dem alle saprophytischen Keime erliegen. Nur wenige, für die betreffende Tierart echt parasitischen Bakterienarten erweisen sich, oft unter Ausbildung besonderer Zustände (Kapselbildung, „tierischen Zustand") widerstandsfähig und legen ihrerseits die Schutzkräfte des Tierkörpers lahm. Dies erfolgt durch Ausbildung besonderer Angriffsstoffe (Aggressine), welche vom Orte der 1. Bakterienansiedlung aus sich im Körper verbreiten. Den Nachweis dieser vorausgesetzten Stoffe suchte Bail bekanntlich unter anderem durch Immunisierung zu führen. Behandelt man ein Tier mit Körperflüssigkeiten eines anderen Tieres, das der Milzbrandinfektion erlegen ist, so können die in diesem enthaltenen Aggressine Veranlassung zur Ausbildung von Antiaggressinen geben und eine Immunität erzeugen, welche sich nicht gegen die Bazillen selbst, sondern nur gegen deren Aggressine richtet und die nur mit der antitoxischen Immunität zu vergleichen, wenn auch nicht zu identifizieren ist. Bail führt diese Versuche mit Milzbrand, Weil besonders mit Hühnercholera durch, und tatsächlich ließ sich auf diesem Wege, ohne Anwendung lebender Bazillen, eine aktive und passive Immunität erzeugen, deren Besonderheiten namentlich von Weil am Hühnercholeraserum studiert wurden.

Für Milzbrand bezeichnete Bail die Oedemflüssigkeit, welche sich nach subkutaner Impfung von Kaninchen relativ reichlich gewinnen läßt, als besonders für Aggressinversuche geeignet.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Abgesehen von der anschließenden Diskussion darüber, ob die Aggressine besondere Stoffe oder gewöhnlichen gelösten Bakteriensubstanzen gleichzusetzen seien, haben die Versuche in praktischer Hinsicht nicht viel Beachtung gefunden. Da es sich aber hier um eine Frage theoretischen wie auch praktischen Interesses handelt, schien es angezeigt, die Untersuchungen neuerdings aufzunehmen und zunächst mit der aktiven Aggressinimmunisierung zu beginnen.

Die Technik der Milzbrandaggressinversuche ist im ganzen eine einfache und bedarf nur geringer Uebung. Verwendet wurde hauptsächlich die Flüssigkeit aus dem Oedem, das sich bei Kaninchen oder Meerschweinchen nach subkutaner Einspritzung kleiner Milzbrandmengen bildet. Sehr häufig entwickelt es sich von selbst so stark und reichlich, daß es genügend Flüssigkeit für Versuche ergibt. Impft man Kaninchen reichlich mit großen Mengen sehr infektiösen Milzbrandmaterials, z. B. Herzblut von infizierten Mäusen, so kann es geschehen, daß die Oedembildung schwach bleibt, während die tödliche Septikämie rasch einsetzt. Aber auch bei der gewöhnlich verwendeten Infektion mit geringen Bazillenmengen bilden manche Tiere, ohne daß sich ein Grund dafür angeben ließe, bei sonst regelrechtem Verlaufe der Krankheit nur wenig Oedem. Hat man Grund zu der Annahme, daß ein solches Tier vorliegt, so kann man in vielen Fällen noch wirksame Flüssigkeit gewinnen, wenn man in das Oedem und dessen nächste Umgebung größere Mengen (10—15 ccm) steriler oder schwach mit Milzbrandbazillen versetzter Fleischbrühe einspritzt. Solche Mengen rufen auch bei normalen Kaninchen ein Reizödem hervor, das sich vom Infektionsherde aus mit Bazillen bevölkert und gut verwendbar ist. Sehr vorteilhaft hat es sich für die Oedemgewinnung erwiesen, den Tod der Tiere nicht abzuwarten, sondern, sobald ein Präparat aus Ohrvenenblut tierische Bazillen in größerer Zahl zeigt, das Kaninchen zu verbluten. Das Oedem ist dann besonders saftreich und man hat den weiteren Vorteil, es mit dem aus dem schwer septischen Blute gewonnenen, nicht selten hämolytischen Serum vermischen zu können. Denn auch ein solches Serum stellt ein wertvolles Aggressin dar, das für sich allein schon zu immunisieren vermag, allerdings aber weniger wirksam als reine Oedemflüssigkeit ist. Schwer septikämisches Milzbrandblut zeigt übrigens in den meisten Fällen schlechte Gerinnbarkeit und Hämoglobinveränderungen. Auffällig, aber durch die bakterizide Wirkung der bis zuletzt wirksamen Blutplättchenstoffe (Gruber, Schneider) wohl zu erklären, ist der unverhältnismäßig geringe Gehalt an lebenden Milzbrandbazillen, den man in solchen Seren oft beobachtet.

Das tote Tier, dessen Bauchteil schon vor der Impfung in großem Umfange rasiert war, wird mit Lysol befeuchtet, dann mit steriler Watte getrocknet, worauf der Schnitt durch die Oberhaut erfolgt. Ein Assistent faßt den Rand der Haut an zwei Stellen mit Haken oder Sperrpinzetten und zieht ihn etwas ab, während der Operateur mit parallel der Haut geführten Schnitten die Oedemmassen ablöst, die dann in die zwischen Haut und Bauchmuskulatur gebildete Tasche sinken. Bei weichen Oedemen fließt dabei reichlich Flüssigkeit aus, die rasch mit Pipette aufgesaugt wird, da sie sehr leicht gerinnt. Es kam vor, daß so 20 ccm Flüssigkeit und mehr gesammelt werden konnten. Die auch von der Bauchmuskulatur gelösten Oedemmassen kommen dann auf ein feines, über eine Glasschale gespanntes Drahtnetz oder noch besser auf einen Dialysator mit einem solchen Drahtnetz. Bei einiger Uebung von Operateur und Assistent kann die ganze Entnahme in weniger als $^1/_4$ Std. beendet sein. Nunmehr zerschneidet man die auf dem Drahtnetz liegenden Massen, deren anfangs reichliches Abtropfen durch die Gerinnung des austretenden Saftes bald aufhört, mit steriler Schere und Pinzette möglichst vielfach, was an sich schon den größten Teil der Flüssigkeit durch den Draht in die untere Schale treten läßt und hilft schließlich durch sanftes Auspressen mit einem Pistill geeigneter Größe nach. Die erhaltene, oft fettgetrübte, sehr oft locker geronnene Flüssigkeit wird mit Pipette aufgesaugt und scharf zentrifugiert, wodurch sie sich von dem Satze, wie von der obersten fettigen Schicht leicht trennen läßt. Hat man Serum aus dem Blute gewonnen, so wird dieses ebenfalls zentrifugiert und mit dem Oedemsafte vermischt. Die Sterilisierung desselben, die Bail in seinen Grundversuchen viele Mühe gemacht hatte, ist unschwer zu erreichen. Denn in der Regel hat man mit keinem hohen Bazillengehalte zu rechnen. Ueber das Serum ist bereits oben gesprochen worden, aber auch das Oedem enthält oft erstaunlich spärliche Bazillen, die zwar, wie bereits Bail beobachtete, ausgesprochen tierisch sind, dabei aber einen offenbar schlechten Zustand zeigen, sich lückenhaft oder nur in den Konturen färben, keine deutliche Trennung von Kapsel und Innenleib zeigen u. dgl. Es war nicht ganz selten, daß solche Oedeme durch bloßes Zentrifugieren keimfrei wurden und selbst in Mengen von einigen Kubikzentimetern nicht infizierten. Mitunter kommen allerdings Kaninchen mit reichlichem

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bazillenbefund im Oedem vor, und bei Meerschweinchen ist dieser die Regel. Immerhin ist bei der ungeheueren Menge der Bazillen in den Meerschweinchenorganen der Gehalt derselben im Oedem als ein sehr mäßiger zu bezeichnen. Da man sich leider auf die sichere Wirkung der Zentrifuge nicht verlassen kann, muß noch eine chemische Sterilisation erfolgen, für welche sich Toluol am besten bewährt. Da es bei einfachem Zusatz nur sehr langsam wirken kann, füllt man das sterilisierte Oedem so in Fläschchen mit Glasstöpsel, daß nur ein geringer Luftraum bleibt, setzt möglichst wenig, je nach der Flüssigkeitsmenge 1—3 Tropfen Toluol zu und bringt es in einen energischen Schüttelapparat, der so lange betätigt wird, bis eine sich gleichmäßig trübende Emulsionierung von beträchtlicher Stabilität erreicht ist, in welcher das Toluol ungemein energisch wirkt. Dazu kann schon 1 Std. ausreichen. Indem man dann den Glasstöpsel durch lockere, sterile Watte ersetzt, ermöglicht man die Verdunstung des Sterilisationsmittels, die durch 37° beschleunigt werden kann. Man bringt nun mindestens je 1 ccm in flüssigen Agar und Fleischbrühe, die kein Milzbrandwachstum mehr ergeben dürfen. Nur selten wurde es notwendig, die Sterilisation zu wiederholen, und es kam nicht vor, daß bei negativem Ausfall dieser ziemlich primitiven Prüfung ein Tier infiziert wurde. Die anfangs mit zur Sterilisationsuntersuchung angewendete Einspritzung von 1—1,5 ccm des Aggressins an eine Maus konnte daher weggelassen werden. Soviel als möglich wurde dann das Aggressin sofort verwendet, doch läßt es sich kühl durch mindestens 14 Tage und wahrscheinlich noch viel länger aufbewahren

Vor Beginn der Immunisierungen wurde eine Anzahl verschiedener Milzbrandstämme genau auf ihre Infektiosität geprüft, da von vornherein nur ein solcher verwendet werden sollte, dessen Infektiosität eine absolute war, d. h. der mit ganz einzelnen Bazillen jedes Kaninchen bei subkutaner Impfung tötete. Diesen Anforderungen entsprach eine ganze Reihe von Stämmen nicht, so der von Bail benutzte Stamm, der seither in Agarkultur in langen Pausen weitergezüchtet worden war. Er konnte zwar Kaninchen typisch töten, aber nur, wenn die Infektionsdosis eine größere Zahl (etwa 1000 Bazillen) enthielt. Aehnlich verhielt sich ein Stamm „Hannover“ und „Prag“. Es war somit die Infektiosität, wenigstens bei dem genau, wenn auch schon vor Jahren untersuchten Bailschen Stamme, von selbst gesunken. Weit auffälliger war aber, daß sie sich durch wiederholte Kaninchenpassage nicht wiederherstellen ließ. Weder bei diesem Stamme, noch bei „Hannover“ war mehr eine Infektion mit Einzelbazillen zu erzielen. Es lag nicht im Plane der Arbeit, diesen Befund genau zu verfolgen. Er verdient aber Erwähnung, weil er zeigt, daß Tierpassage durchaus kein allgemein wirksames Mittel zur Wiedererlangung verlorener Infektiosität ist. Schon Koch, Gaffky und Loeffler haben gefunden, daß ein künstlich abgeschwächter Milzbrand, der nur noch Mäuse tötete, auch nach 17maligem Mäusedurchgange kein Meerschweinchen mehr töten konnte, und Bail und Bail und Flaumenhaft (dieses Centralbl. Bd. 76. Nr. 5, und Bd. 79 Nr. 7) machten ähnliche Beobachtungen. Es hat den Anschein, als ob nur ein gutversporender Milzbrand seine Infektiosität beibehalten würde, während sie sonst langam sinkt, wie bei jedem anderen pathogenen Mikroorganismus, und dann nicht wiederherzustellen ist.

Herr Prof. Sobernheim hatte die große Güte, mir 4 Stämme von Milzbrand zu überlassen, von denen der als „Kalb“ bezeichnete den gestellten Anforderungen entsprach und schon mit kaum 20 Bazillen jedes Kaninchen tötete. Nur einmal kam es vor, daß ein Kaninchen am Leben blieb, obwohl eine mit der Infektionsmenge angelegte Agarplatte noch 7 Milzbrandkolonien ergab; doch ist hier wohl schon die unterste Grenze erreicht, bei der man nicht mehr sicher sein kann, daß die eingespritzte Flüssigkeit überhaupt noch jedesmal wirklich Bazillen enthält. Zu allen Versuchen wurden Kaninchen von wenigstens $1^1/_2$ kg Gewicht verwendet.

Generated on 2019-09-17 13:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Kaninchen a erhielt am 18. Okt. 1 ccm, am 21. Okt. 8, am 30. Okt. 12 ccm Kaninchenaggressin subkutan. Die ersten beiden Injektionen wurden mit reinem Oedem, die 3. mit einer Mischung von etwa 2 Teilen Serum und 1 Teil Oedem eines infizierten Kaninchens ausgeführt.

Am 6. Nov. wurde das Tier gleichzeitig mit einem unbehandelten Kontrolltier b mit 0,3 ccm einer Verdünnung von Herzblut einer frisch an Milzbrand „Kalb" gestorbenen Maus subkutan infiziert. Nach einer Keimzahlbestimmung mit Agarplatte erhielt jedes Tier 130 Bazillen. Das Kontrolltier b starb am 8. Nov. an typischem Milzbrand mit viel Oedem, Kaninchen a reagierte nicht. Es erhielt am 15. Nov. neuerlich 641 Mäusebazillen subkutan und zeigte am nächsten Tage ein nur geringes Oedem, das am übernächsten Tage verschwand. Am 25. Nov. erhielt es 2 ccm nicht sterilen Oedems eines infizierten Kaninchens mit ca. 43000 Bazillen intravenös ohne jede Krankheitserscheinung. Am 2. Dez. wurden 4 ccm nicht sterilisierten Kaninchenödems, das aber zentrifugiert war und nur ca. 500 lebende Bazillen enthielt, subkutan gegeben. Ein am nächsten Tage aufgetretenes geringes Oedem war am 4. Dez. spurlos verschwunden, aber das Tier fieberte und machte einen kranken Eindruck. Am 7. Dez. erfolgte eine Blutentnahme und bald darauf starb das Tier. Es zeigte eine schwere eitrige Pericarditis und Pleuritis (Befund einer eben herrschenden Stallseuche), aber nirgends mikroskopisch und kulturell auch nur Verdacht auf Milzbrand.

Kaninchen c erhielt am 18. Okt. 0,5 ccm, am 21. Okt. 7, am 30. Okt. 10 ccm der gleichen Aggressine wie Kaninchen a subkutan, am 8. Nov. 1 ccm scharf zentrifugiertes, aber nicht sterilisiertes Oedem eines mit Milzbrand „Kalb" infizierten Kaninchens, gleichzeitig mit einem Kontrolltiere d. Aber beide Kaninchen blieben ohne Reaktion, so daß das Zentrifugieren eine Sterilisation des Oedems herbeigeführt haben mußte. Tatsächlich war auch eine mit 1 ccm angelegte Agarplatte steril geblieben.

Die Tiere c, d und ein frisches Kontrolltier e erhielten deshalb am 15. Nov. 641 Bazillen aus Herzblut einer infizierten Maus subkutan (s. oben Kaninchen a). Tier e starb schon am 16., Tier d am 17. Nov. an schwerster Sepsis, c blieb ohne Reaktion und erhielt am 25. Nov. 2 ccm des gleichen unbehandelten Aggressins subkutan, das bei Kaninchen a intravenös gegeben worden war. Am nächsten Tage war ein beträchtliches, fast eigroßes Oedem entstanden, aber schon am übernächsten verschwunden. Auch dieses Tier erlag der Stallseuche am 5. Dez. Die genaueste Untersuchung aller Organe ergab keine Spur von Milzkrandbazillen mehr.

Der erlangte aktive Immunitätsgrad der Tiere, der immer in der schwersten Weise mit Bazillen aus dem Tierkörper geprüft wurde und schließlich die enorme Infektion mit ca. 40000 tierischen Bazillen intravenös oder subkutan überwand, muß als ein sehr hoher bezeichnet werden.

Kaninchen f_1 erhielt 8. Dez. 12 ccm steriles Kaninchenaggressin (Oedem plus Serum) intraperitoneal, am 16. Dez. 488 Bazillen aus Mäuseherzblut subkutan. Es überlebte mit geringem, bald verschwundenem Oedem, während ein unbehandeltes Kontrolltier f am 3. Tage mit schwerster Milzbrandsepsis bei relativ geringem Lokalödem starb. Am 21. Dez. erhielt das Tier 3 ccm einer nicht sterilisierten, aber scharf zentrifugierten Mischung von Oedem und Serum eines Milzbrandkaninchens, gleichzeitig mit einem Kontrolltier f_2. Beide Tiere überlebten die Infektion dieser Flüssigkeit, die sich auch auf der Platte als steril erwies. Am 29. Dez. wurden 8 ccm einer analogen Mischung subkutan gegeben, die von einem Kaninchen stammte, das Symptome der Stallseuche (Paratyphus B-Gruppe) aufwies. Sie enthielt 662 Milzbrandbazillen und daneben auch zahlreiche Seuchenbakterien. Es bildete sich Oedem aus, das in eine harte Infiltration überging. Ohne die völlige Heilung abzuwarten, erhielt das Tier am 8. Jan. 12 ccm einer Mischung von Milzbrandödem mit Milzbrandseren mit 2040 Bazillen und reagierte lediglich mit einem rasch verschwindenden Oedem.

Kaninchen g wurde am 8. Dez. mit Kaninchen f behandelt, erhielt am 21. Dez. das durch Zentrifugieren steril gewordene Oedem, am 29. Dez. die gleiche verunreinigte Injektion mit 662 Mäusebazillen. Auch hier bildete sich ein hartes Infiltrat aus. Ohne dessen Heilung abzuwarten, wurde das Tier am 8. Jan. mit Kaninchen f infiziert und reagierte nun mit rasch verschwindendem Oedem. Am 29. Jan. erhielt es 6 ccm eines frischen Kaninchenödems ohne Reinigung mit nicht zählbarer Bazillenmenge und überstand mit ganz geringer Oedembildung. Kaninchen f_2, das am 21. Dez. 3 ccm eines keimfreien, nicht künstlich sterilisierten Oedems erhalten hatte, wurde am 8. Jan. mit 10 ccm sterilen Aggressins nachbehandelt und erwies sich dann als immun gegen 0,5 ccm unverändertes Oedem mit sehr großer Bazillenzahl.

Nicht ohne Interesse ist der Befund an Kaninchen h. Das Tier sollte ohne Bazilleninfektion zum Zwecke der Serumgewinnung nur mit sterilem Aggressin vorbehandelt werden, erhielt am 8 Dez. die gleiche Injektion wie f und g intraperitoneal,

Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

am 23. und 30. Dez. 12 und 14 ccm sterilisierter Mischung von Oedem und Serum gleichfalls intraperitoneal. Am 29. Jan. erhielt es 4 ccm des gleichen, frischen Kaninchenödems, das von Kaninchen g in der Menge von 6 ccm ohne Beschwerde vertragen worden war. Es zeigte am nächsten Tage starkes Oedem, das sich vergrößerte. Am 2. Febr., also angesichts der ungeheuren Bazillenmenge, die das Tier erhalten hatte, jedenfalls mit bedeutender Verzögerung, starb das Tier an Milzbrand.

Der folgende Versuch wurde mit ein und demselben Aggressin von einem Kaninchen angestellt, das sehr reichlich Oedemflüssigkeit und überdies septikämisches Serum geliefert hatte.

Es wurden hier 3 Kaninchen, 3 Meerschweinchen und 3 Mäuse behandelt, und zwar je 1 dieser Tiere 1mal (9. April), je 1 2mal (9. und 12. April), je 1 3mal (9., 12. und 14. April). Die Kaninchen erhielten bei jeder Injektion 5, die Meerschweinchen 2,5, die Mäuse 1 ccm sk. Am 24. April erhielten alle Tiere, samt unbehandelten Kontrollen, je 516 Mäusebazillen subkutan. Das Kontrollkaninchen starb typisch nach weniger als 48 Std., das 1mal vorbehandelte Kaninchen hatte zu dieser Zeit ein etwa taubeneigroßes Oedem, das sich vergrößerte; das Tier starb 1 Tag später als das Kontrollier. Das 2- und 3mal behandelte Kaninchen zeigte nur geringe, bald verschwindende Oedeme und sonst nichts von einer Krankheit. Die Meerschweinchen starben unterschiedslos innerhalb 48 Std. Von den Mäusen starb die Kontrollmaus und die 1mal vorbehandelte nach 24 Std.; die 2- und 3mal behandelten Tiere hatten um diese Zeit sehr starke, derbe Oedeme, mit denen die Tiere noch 3 Tage lebten, also erst am 4. Tage nach der Injektion dem Milzbrand erlagen.

In einem anderen Versuche wurden nochmals 2 Kaninchen mit je 5 ccm, 2 Meerschweinchen mit 2,5 ccm 2mal und 3mal vorbehandelt und genau 2 Wochen nach der letzten Injektion mit 23 Bazillen aus einer unmittelbar mit Mäuseherzblut angelegten Brühezucht subkutan geimpft. Während das Kontrolkaninchen am 3. Tage typisch starb, zeigten die vorbehandelten überhaupt keine Störung. Das Kontrollmeerschweinchen starb gleichfalls am 3. Tage, das 2mal behandelte hatte um diese Zeit ein mäßiges Oedem und starb nach genau 4 Tagen. Bei dem 3mal vorbehandelten Tiere war nach 3 Tagen das Oedem eben erst merkbar, vergrößerte sich aber am 4. Tage und nach 5 Tagen trat auch hier der Tod ein. Bei der außerordentlichen Milzbrandempfindlichkeit des Meerschweinchens ist eine gewisse Widerstandskraft unverkennbar.

Im ganzen wurden 17 Kaninchen der aktiven Immunisierung mit Kaninchenaggressin in verschiedener Weise unterzogen; von diesen, 6 bis 20 Tage später infizierten Tieren starben nur die oben angeführten 2 Tiere, bei denen der Tod ungezwungen das eine Mal durch die übermäßige Infektion, das andere Mal durch eine ungenügende Vorbehandlung erklärt werden kann. Die Infektion erfolgte qualitativ in der schwersten Weise, indem sie fast immer mit Bazillen aus dem infizierten Tierkörper vorgenommen wurde.

Die Tatsache der Schutzwirkung von Körperflüssigkeiten infizierter Tiere steht also außer allem Zweifel. Von den älteren Versuchen Bails unterscheiden sich die eigenen dadurch, daß als Aggressin nur gelegentlich reine Oedemflüssigkeit verwendet wurde, meist eine Mischung von solchem mit milzbrandigem Serum, dessen immunisierende Kraft zwar erwiesen ist, aber der des reinen Oedems nahesteht.

Fast negativ verliefen hingegen die Versuche, mit den gleichen Körperflüssigkeiten, welche Kaninchen Schutz verliehen, auch Meerschweinchen und Mäuse zu immunisieren. Wohl kamen Anzeichen zur Beobachtung, daß eine Beeinflussung des Milzbrandverlaufes auch bei diesen Tieren möglich ist. So lebten die am meisten vorbehandelten Meerschweinchen des letzt angeführten Versuches entschieden länger und wiesen auch einen geänderten Reaktionsverlauf auf, und dies Ergebnis ließe sich wahrscheinlich bei weiterer Milderung der Prüfungsinfektion (die deswegen doch für alle Kontrolltiere unbedingt tödlich sein kann) noch verbessern. Mäuse lassen sich durch lange fortgesetzte vorsichtige Behandlung mit Kaninchenödem und mindestens 10-täg. Zwischenraum zwischen Abschluß der Vorbehandlung und Infektion so festigen, daß sie 8—10 Tage am Leben bleiben; solche Tiere zeigen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dann gewöhnlich sehr starke Entwicklung eines derben, aber nicht zellreichen Oedems fast über den ganzen Körper und spärlichen Bazillenbefund. Aber abgesehen davon, daß dieses Resultat auch nicht allgemein zu erzielen ist, steht doch außer Frage, daß die Immunisierung von Meerschweinchen und Mäusen unvergleichlich schwieriger ist als die von Kaninchen. Es ist natürlich schwer zu sagen, worauf dieses abweichende Verhalten der gewöhnlichen Laboratoriumstiere zurückzuführen ist, da ein Hinweis auf die größere Empfindlichkeit von Maus und Meerschweinchen nichts erklären kann.

Es war einerseits zu prüfen, ob beim infizierten Meerschweinchen ebenfalls Aggressin in den Körperflüssigkeiten in ausreichender Menge vorhanden sei, andererseits zu untersuchen, ob nicht ein von Meerschweinchen selbst stammendes Aggressin einen besseren Schutz dieser Tiere herbeiführen könne als Kaninchenödem.

Als Aggressin wurde das leicht in genügender Menge zu gewinnende Exsudat schwer intraperitoneal infizierter, großer Meerschweinchen verwendet, das trotz seiner dicklichen Beschaffenheit leicht zu zentrifugieren und mit Toluol zu sterilisieren ist.

Ein Kaninchen (1500 g) erhielt hiervon am 9., 12. und 14. März je 3,5 ccm, am 24. März 9, am 11. März 7 ccm subkutan, ein großes Meerschweinchen zu den gleichen Zeiten je 1,5, 8 und 6 ccm ebenfalls subkutan. 8 Tage nach der letzten Vorbehandlung erfolgte subkutan die Infektion mit ca. 20000 Bazillen aus einer Fleischbrühekultur, die mit Herzblut einer Maus angelegt war. Ein Kontrollkaninchen starb nach 48 Std., ein sehr großes Kontrollmeerschweinchen nach etwas mehr als 48 Std. mit schwerer Sepsis und reichlich Oedem. Das vorbehandelte Kaninchen zeigte überhaupt keine Reaktion; das Meerschweinchen hatte am nächsten Tage mäßiges Oedem, das innerhalb 3 Tagen zurückging; es blieb am Leben. Der Versuch, bei welchem nach den früheren Erfahrungen die Vorbehandlung eine sehr ausgiebige war, hat nur theoretische Bedeutung, scheint aber die aufgeworfenen Fragen im bejahenden Sinne zu beantworten. Ohne Zweifel bildet sich auch im Meerschweinchenkörper bei der Milzbrandinfektion ein immunisatorisch wirksames Oedem, und es ist möglich, daß dieses Meerschweinchen besser immunisiert als Kaninchenaggressin.

In bezug auf die Herkunft der immunisierenden Stoffe nahm Bail an, daß dieselbe auf besondere, seitens der infizierenden Bazillen gebildete, am Zustandekommen der Infektion beteiligte Stoffe (Aggressine) zurückzuführen sei. Es ist nicht beabsichtigt, auf die daran sich anschließende Diskussion an dieser Stelle einzugehen. Nur auf den Haupteinwand möge hingewiesen werden, nach welchem die immunisierende Kraft auf die Wirkung von gelösten Bakteriensubstanzen zurückzuführen sei; daraus ergibt sich der Schluß, daß man auch mit solchen eine Immunität hervorrufen könne. Gerade für Milzbrand trifft dies nach allen Erfahrungen nicht zu und gilt auch nicht für den vorwiegend benutzten, hochinfektiösen Stamm. Beliebige Vorbehandlung mit Extrakten aus solchen oder mit abgetöteten Kulturen ergibt bei Kaninchen niemals eine Andeutung von Immunität.

Eine genauere Ueberlegung zeigt auch sogleich, daß eine Immunität auf diese Weise gar nicht erwartet werden kann. Denn gerade bei Milzbrand kommt die Lebensform, in welcher der Bazillus im Tierkörper gefunden wird, in den gewöhnlichen Kulturen gar nicht zur Entwicklung. Sie ist aber ausgezeichnet durch die Bildung des besonderen „tierischen“ Zustandes mit Kapsel, welche aufs engste mit der Infektiosität zusammenhängt (vgl. dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 75. Nr. 2). Es liegt daher nahe, die Bildung des tierischen Zustandes und des Aggressins der Bazillen in Zusammenhang zu bringen, der im einzelnen natürlich noch ein mannigfaltiger sein kann.

Berücksichtigt man die bekannten Methoden zur erfolgreichen aktiven Immunisierung, so sind deren nur zwei sicher wirkende bekannt: die Vorbehandlung mit abgeschwächten Kulturen nach Pasteur und die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit Körperflüssigkeiten infizierter Tiere. Beiden ist das hier hervorgehobene Merkmal gemeinsam, daß sie zwar für Kaninchen (und Schafe) leicht verwendbar sind, bei Meerschweinchen und Mäusen aber in der Regel versagen. Bail hat von jeher den Standpunkt vertreten, daß Pasteursche und Aggressinimmunisierung im Grunde den gleichen Vorgang darstellen, daß der abgeschwächte Milzbrand nur durch das Aggressin wirke, das er im Körper in begrenzter Menge bilde. In der Tat läßt sich leicht zeigen, daß ein völlig der Virulenz beraubter Milzbrand auch keine Immunität mehr erzeugt. Nur wenn er noch imstande ist, bei subkutaner Einspritzung leichtes Oedem zu erzeugen, das dann zur Resorption kommt, tritt sichere Immunität ein.

Auch in einer weiteren Hinsicht zeigen Pasteursche und Aggressinimmunität eine auffallende Uebereinstimmung: Mit beiden läßt sich zwar eine Immunität erzeugen, die in Anbetracht der absoluten Infektiosität entsprechend infektiöser Versuchsbazillen als eine hohe bezeichnet werden kann, die aber gleichwohl besonderen Infektionsarten (Anwendung tierischer Bazillen in erhöhter Menge, Fütterung nach R. Koch) nicht gewachsen ist. Man erzielt immer nur eine, wenn auch sehr beträchtliche Grundimmunität, die erst dann wieder ansteigt, wenn man jetzt zur Einspritzung lebender, virulenter Erreger übergeht. So behandelte Tiere vertragen Infektionen mit tierischem Materiale, denen auch sehr starke, aber ohne lebende, virulente Erreger vorbehandelte Tiere erliegen. Es wäre nicht unmöglich, daß damit auch die schwierige Immunisierbarkeit von Meerschweinchen und Mäusen zusammenhängt.

Von diesem Höhertreiben der Immunität ist man namentlich bei der Herstellung von passiv schützenden Milzbrandseren abhängig. Wohl durch Nichtbeachtung dieses Zustandes ist es zu erklären, daß hochwertige Seren, die einen Schutzwert von weniger als 1 ccm für ein Kaninchen haben, in eigenen Versuchen bisher noch nicht hergestellt wurden, während es leicht gelingt, von Tieren, die in der früher angegebenen Weise behandelt wurden, Seren zu gewinnen, die, zu 3—4 ccm intravenös gegeben, gegen eine später nachfolgende subkutane Infektion schützen. Es sei daher hier nur ein Versuch angeführt, bei dem ein solches Serum mit toten Bazillen vorbehandelt wurde, um zu sehen, ob dadurch die schützenden Stoffe entfernt werden können.

Die zur Behandlung des Immunserums bestimmte junge, 14-stünd., üppige Agarkultur wurde in 1,5 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt und 1 Std. auf 65° erwärmt. Damit wurde angelegt:

I. 3 ccm Immunserum plus Milzbrand in 1,5 ccm NaCl-Lösung.
II. 3 ccm Immunserum plus 1,5 ccm NaCl-Lösung.
III. 3 ccm Normalserum plus 1,5 ccm NaCl-Lösung.

Die Proben blieben 1 Std. bei 37° und wurden sodann gründlich zentrifugiert, die Abgüsse wurden zu Tierversuchen verwendet.

Kaninchen Ia erhielt 3 ccm von I intravenös und 6 Std. später 87 Mäusebazillen subkutan.

Es blieb ohne Krankheit am Leben.

Kaninchen Ib erhielt 1,5 ccm von I intravenös, sonst wie Ia. Es zeigte schon am nächsten Tage bedeutendes Oedem und starb nach ca. 48 Std. typisch.

Kaninchen IIa erhielt 3 ccm von II intravenös, sonst wie die vorigen, zeigte am nächsten Tage geringes Oedem, das bald verschwand. Blieb munter.

Kaninchen IIb erhielt 1,5 ccm von II intravenös, sonst wie die vorigen; zeigte am nächsten Tage starkes Oedem und starb nach weniger als 48 Std. typisch.

Kaninchen IIIa erhielt 2 ccm von III intravenös, sonst wie die vorigen; verhielt sich genau wie Kaninchen IIb.

Der Versuch zeigt, daß von diesem Serum wohl 2 ccm, nicht mehr aber 1 ccm bei der benutzten Anordnungsweise Schutz verleihen konnte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Man kann also nur von einer mäßigen Wirksamkeit sprechen. Dennoch ist deutlich zu sehen, daß die recht eingreifende Behandlung mit toten Milzbrandbazillen, welche gewöhnliche bakterizide Antikörper durch Bindung hätte entfernen müssen, die Schutzwirkung nicht merklich verringert hat, ein Verhalten, das für antiaggressive Seren bezeichnend zu sein scheint. Endgültige Versuche in größerer Ausdehnung und Erweiterung, namentlich nach der Richtung, ob kapselhaltige, tierische Milzbrandbazillen ein anderes Verhalten zeigen als Kulturbazillen, setzen den Besitz höherwertiger Seren voraus.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die therapeutische Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln durch Messung der Zellatmung[1].

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Frankfurt a. M.]

Von Privatdozent Dr. **Werner Lipschitz.**

I.

Wenn auch das Ergebnis aller Reagenzglasversuche auf die Verhältnisse am lebenden infizierten Tier und Menschen nur mit großer Vorsicht Schlüsse zuläßt, haben doch die im Tierexperiment sich als brauchbar erweisenden chemotherapeutischen oder wunddesinfektorischen Mittel auch im Hemmungs- und Abtötungsversuch an Bakterien meist ihre Wirksamkeit zu erkennen gegeben; daher ließ umgekehrt der Ausfall derartiger Versuche eine orientierende Auswertung der Wirkungsstärke von therapeutisch anzuwendenden Antisepticis zu. — Eine gleichartige Messung der Wirkungsstärke der angewandten Mittel gegenüber dem Wirtsorganismus ist jedoch bisher nicht möglich gewesen, weil ein quantitativ brauchbarer Maßstab für die Gewebsschädigung fehlte. Man berücksichtigte bei Wundantisepticis orientierend hauptsächlich die durch sie eventuell eintretende Nekrotisierung normalen Gewebes oder die bei ihrer Einwirkung erkennbare Reinigungs- und Regenerationstendenz von Wundflächen, die naturgemäß schwer eindeutig zu definieren ist, — bei Anwendung von Mitteln, die von der Blutbahn aus wirken, stellte man die Dosis toxica oder letalis fest und bestimmte danach den therapeutischen Quotienten $\left(\frac{\text{Dosis therapeutica}}{\text{Dosis letalis}}\right)$.

In der Erkenntnis der Unzulänglichkeit dieses Vorgehens für praktische, vor allem auch theoretische Fragen wurden schon vor langer Zeit Stoffwechselvorgänge in den Zellen als Indikator für die Wirkungsstärke körperfremder Stoffe herangezogen, in besonderem Umfange solche, die

1) Vorhergehende Mitt.: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 92. 1922. H. 1/3. XXVI; Klin. Wochenschr. II. 1922. S. 325. — Lipschitz, W., u. Freund, H., Die Beziehung der bakteriziden Wirkungsstärke von Chinin und Hydrocupreinhomologen zu ihrer Oxydationshemmung gegenüber verschiedenen Zellen. (Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 99. 1923. S. 226.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit reduktiven Umwandlungen zugesetzter Stoffe verknüpft sind und dabei leicht erkennbare Farbänderungen hervorrufen. Wenn auch der Grundgedanke dieser Untersuchungen, Messung der Gewebsatmung, sich als durchaus fruchtbar erwiesen hat, haben sie doch nicht zu weiter reichenden Ergebnissen geführt, weil man, anstatt den Sauerstoffverbrauch zu bestimmen, indirekte Methoden anwandte, die einerseits nicht eng mit der Zellatmung verknüpfte Prozesse messen, andererseits nicht fein genug auf graduell abgestufte Zellschädigungen ansprechen; wenigstens ist der Beweis dafür weder für die Methylenblau- noch die Tellurmethode erbracht worden; im Gegenteil haben sich vielfältige Beobachtungen ergeben, die eine Diskrepanz von Sauerstoffzehrung und Reduktionsvermögen des Gewebes gegenüber den genannten Substanzen erkennen lassen, von denen Blausäureunempfindlichkeit (Methylenblaureduktion) und ungenügende Thermolabilität (Reduktion von telluriger Säure) im Vordergrunde stehen. Die Unstimmigkeiten der Methylenblaumethode wurden an anderem Ort [1]) schon zusammengestellt; hinsichtlich der Telluritreduktion ist zu erwähnen, daß Thunberg [2]) bereits sie im wesentlichen als keinen enzymatischen Prozeß betrachtet, da sie durch Erhitzen des Gewebes nicht aufzuheben ist; in neuester Zeit hat über diese Frage wiederum eine lebhafte Diskussion [3]) eingesetzt.

Wenn also auch zweifellos die direkte Gaswechselmessung an Bakterien und Gewebszellen mit Hilfe von Barcroftmanometern die exakteste „bioskopische" Methode darstellt, die für physiologische Fragestellungen vielfach mit großem Erfolge benutzt worden ist, und die den Vorteil besitzt, nur wenig Zellmaterial zu beanspruchen und den zur Kultur benutzten Nährboden, wofern er flüssig ist, ohne weiteres zuzulassen, schien mir doch die Uebertragung der Nitroreduktionsmethode auf derartige Probleme nützlich. Sie macht die immerhin etwas komplizierte Gaswechselapparatur entbehrlich, die zudem eine nur beschränkte Zahl von Einzelversuchen ermöglicht; andererseits hat sich in mehrere Jahre lang durchgeführten Untersuchungen [4]) ergeben, daß die aromatische Nitrogruppe in meßbarem Umfange ausschließlich durch atmendes oder gärendes Material reduziert wird, und umgekehrt, daß alle chemischen oder physikalischen Eingriffe, die die Zellatmung herabsetzen (oder auch steigern), in gleichem Sinne gegenüber der Nitroreduktion wirksam werden.

Die Zellatmungsintensität wird durch die Konzentration des aus dem farblosen m-Dinitrobenzol durch Reduktion sich bildenden gelben Nitrophenylhydroxylamin gemessen. — Es ist von Bedeutung, daß bei relativem Mangel an Dinitrobenzol die Reduktion über Nitrophenylhydroxylamin bis zu dem wieder schwächer gefärbten Nitranilin führt, so daß dann keine einwandfreie kolorimetrische Konzentrationsbestimmung mehr möglich ist. — Es wurde gezeigt, daß auch andere aromatische Nitrokörper [5]) durch Zellen reduzierbar sind, und andererseits,

---

1) Lipschitz, Klin. Wochenschr. I. 1922. Nr. 1.
2) Skand. Arch. Bd. 35. 1918. S. 181.
3) Keysser, Med. Klin. 1921. Nr. 14; Munter, ebenda. 1922. Nr. 22; Morgenroth, Dtsch. Ztschr. f. Chir. Bd. 165. 1921. S. 154.
4) Lipschitz, zum Teil gemeinschaftl. mit Hertwig, G., Gottschalk, A., Freund, H., Pflüg. Arch. 1920—22.
5) Lipschitz, Ztschr. physiol. Chem., Bd. 109. 1920. H. 5.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

daß an Bakterien[1]) mit Hilfe der Nitroreduktionsmethode ganz allgemein biologische Fragen sich prüfen lassen.

Vor kurzem hat R. Bieling, ausgehend von den Untersuchungen von H. Freund und mir, in zwei kurzen Mitteilungen[2]) statt des m-Dinitrobenzol für die entsprechenden Zwecke Nitroanthrachinon als reduzierbaren Atmungsindikator empfohlen, das dabei in das stark färbende Aminoanthrachinon übergeht; Prinzip und Fragestellung sind naturgemäß die gleichen. Der experimentelle Nachweis der Beziehung dieser Reduktion zu dem physiologischen Atmungsprozeß steht noch aus, doch ist es sehr wahrscheinlich, daß auch diese aromatische Nitrogruppe — entsprechend den von mir untersuchten — den Luftsauerstoff als Wasserstoffakzeptor teilweise zu ersetzen vermag, und die weiter unten angeführten orientierenden Versuche unter Verwendung von Dinitrobenzol und Nitroanthrachinon geben für diese Vermutung Anhalt. Indessen meint Bieling[3]) irrtümlich, die Nitroreduktion „lasse den Verbrauch des Luftsauerstoffs unberücksichtigt und beschränke sich auf die Bestimmung der anaëroben Atmung." Ich konnte im Gegenteil früher zeigen, daß Reduktion des Nitrosauerstoffs und des Luftsauerstoffs konkurrierende Reaktionen sind. Darüber hinaus aber werden durch die Nitroreduktion auch gärungsartige Zellprozesse gemessen, die in intermolekularen Sauerstoff-Wasserstoffverschiebungen unter Freiwerden von Energie bestehen. Und gerade darin scheint mir ein Vorzug der Nitroreduktionsmessung vor der Atmungsmessung zu liegen, weil manche Bakteriengruppen — ähnlich wie die Hefezelle — atmen und gären, die obligat anaëroben Bakterien sogar ausschließlich gären[4]), so daß bei Anwendung der Nitromethode auch deren Schädigung durch Desinfizientien leicht meßbar wird. — Ich möchte also auch Bielings[5]) Meinung nicht zustimmen, „es sei ein Paradoxon, daß bestimmte Pflanzen und Tiere nicht atmen" (sondern gären). — Auf einem Irrtum beruht ferner in den Ausführungen von Bieling die Angabe, ich hätte Nitrobenzol zu meinen Atmungsmessungen verwendet, das in das gelbe Phenylhydroxylamin übergehe. — Die erste Substanz ist ein schweres Atmungsgift[6]), die zweite ist völlig farblos; sondern es handelt sich um Dinitrobenzol und das gelbe m-Nitrophenylhydroxylamin. Daß die Verwendung dieses Atmungsindikators auch bei Prüfung von desinfizierenden Substanzen mit Farbstoffcharakter (Fuchsin, Acridinfarbstoffe) gut verwendbar ist, ergibt sich — im Gegensatz zu der Meinung von R. Bieling — aus den unten beschriebenen Versuchen.

Eine feste Basis gewann die Dinitrobenzolmeßmethode durch die Beobachtung, daß der zeitliche Ablauf der Nitroreduktion mit der Zeitkurve z. B. der Muskelatmung übereinstimmt, und daß sogar unter anaëroben Bedingungen von Zellen Kohlensäure entsprechend der Verwertung des Nitrosauerstoffs gebildet wird[7]).

---

1) Hertwig, G., u. Lipschitz, Pflüg. Arch. Bd. 183. 1920. S. 279. — Lipschitz u. Gottschalk, ebenda. Bd. 191. 1921. S. 49.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. Beih. S. 147; Ebenda. Bd. 90. 1923. H. 2. S. 49.

3) Bieling, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. 1923. H. 2. S. 49.

4) S. i. dies. Zusammenhang, Lipschitz u. Gottschalk, Die Reduktion der arom. Nitrogruppe als Indikator von Teilvorgängen der Atmung und der Gärung. II. Mitteilung. (Pflüg. Arch. Bd. 191. 1921. S. 33.)

5) l. c. S. 49.

6) Lipschitz, Ztschr. physiol. Chem. Bd. 109. 1920. H. 5.

7) Ders., Pflüg. Arch. Bd. 196. 1922. S. 463 ff.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Technik der Methode[1]) gestaltet sich für die hier beabsichtigte Anwendung sehr einfach: Gleiche Mengen Zellen — im Falle der Bakterien durch Pipettieren aus einer dichten, sorgfältig durchgeschüttelten Aufschwemmung zu gewinnen, im Falle von Gewebszellen durch feines Zerschneiden von Organen in späterhin angegebener Weise und Abwägen von 2 g-Portionen — werden mit der gleichen Menge Suspensionsflüssigkeit oder Desinfektionslösung von steigender Konzentration vermischt und nach Zusatz von je 0,2 g gepulvertem reinen m-Dinitrobenzol (Merck) unter öfterem Umschütteln bei 37° einige Stunden aufbewahrt. Ein Teil des wasserunlöslichen, im Ueberschuß vorhandenen Dinitrobenzols wird rasch von den Zellen aufgenommen, in ihnen mehr oder weniger umfangreich reduziert und als gelbes, nun wasserlöslich gewordenes Nitrophenylhydroxylamin an die Flüssigkeit wieder abgegeben. Kühlt man dann zur Beendigung des Versuches nach überall gleicher Zeit mit Eiswasser, versetzt die Reaktionsgemische mit dem der Flüssigkeitsmenge entsprechenden Volumen reinen Aethers und schüttelt einige Male um, so geht das gesamte Nitrophenylhydroxylamin aus der wässerigen Flüssigkeit und den Zellen in den Aether über. Ein Teil der gelben Aetherlösung wird abgehoben und sofort im Autenriethschen Kolorimeter gegen einen willkürlichen Nitrophenylhydroxylaminkeil eingestellt. Durch Benutzung von Kontrollen (die ohne Desinfektionsmittel angesetzt waren) und Berechnung nach der Formel[1]): $x_0 = \frac{100}{100-a}(x_1 - a)$ erhält man direkt die Atmungshemmung in Prozent (x_0) gegenüber den Kontrollen; in dieser Formel bedeutet a die Kolorimeterzahl der Kontrolle, x_1 die Kolorimeterzahl des jeweiligen Atmungsversuchs in Gegenwart von Desinfektionsmitteln. Im Grenzfall bleibt natürlich Reaktionsgemisch wie Aether völlig farblos: Atmungshemmung = ca. 100 Proz.

Auf einen gegen die Versuchsanordnung möglichen Einwand sei gleich hier eingegangen: er betrifft die für bakteriologische Zwecke ganz ungewöhnlich große Zahl der verwendeten Bakterien, die selbst im schwerst infizierten Organismus kaum eine Rolle spielt. Dieser Einwand ist deshalb nicht stichhaltig, weil das Ziel vorliegender Untersuchungen nicht Vergleich der absoluten Wirkungsstärke von Antisepticis gegenüber Bakterien und Körperzellen ist, sondern der Vergleich ihrer Wirkungsquotienten, die (willkürlich) auf Chinin als Einheit bezogen werden. Es handelt sich um in sich völlig einheitliche Versuchsreihen, deren willkürliche Bedingungen sich also durch Division gegenseitig herausheben und das Ergebnis nicht beeinflussen. Parallelversuche mit Atmungsmessung durch Barcroftmanometer würden übrigens eine erheblich geringe Bakterienkonzentration erfordern und entsprechende Resultate ergeben.

Die gleiche Ueberlegung ist zur Bewertung mancher anderer Einwände anzustellen; von diesen liegt z. B. der Hinweis auf den verschiedenen Zustand nahe, in dem Bakterien und Körperzellen der Wirkung von Antisepticis ausgesetzt werden: die Muskelzellen mit mechanisch eröffneten Zellmembranen, die Bakterien intakt. Oder man könnte eine eventuell verschiedene Wasserstoffionenkonzentration an den Reaktionsorten der verschiedenen Zellarten als Ursache der verschie-

---

1) Lipschitz, Pflüg. Arch. Bd. 196. 1922. S. 463 ff.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

denen Wirkungsquotienten annehmen. Wie schon a. a. O.[1]) ausgeführt wurde, genügen diese Momente nicht zur Erklärung der Phänomene, sondern ihre Hauptursache ist wohl in der verschiedenen physikalisch-chemischen Konstitution der verschiedenen Zellarten — auch Bakterienarten — zu suchen, die mit einer wechselnden Empfindlichkeit ihres fermentativen Systems (Ferment, Zellstruktur) einhergeht und z. B. zu einer umfangreicheren adsorptiven Bindung von Sublimat und Trypaflavin durch Bact. coli als durch Meerschweinchenleber führt, wie M. Hahn und E. Remy[2]) fanden; übrigens benutzten auch diese Autoren ganz ungewöhnlich große Bakterienkonzentrationen, ohne daß daraus ein Einwand abzuleiten wäre.

II.

In einer Untersuchung von Helmuth Freund und mir[3]) hatte sich bereits an einem Beispiel ergeben, daß eine auffallende Uebereinstimmung der Wirkungsquotienten von Chinin und Hydrocupreinhomologen besteht, wenn man einmal einen Bakterienstamm im Abtötungsversuch auf seine Empfindlichkeit prüft, andererseits die Nitroreduktion von gleichen Mengen einer dichten Bakterienaufschwemmung unter wechselnden Konzentrationen dieser Alkaloidsubstanzen quantitativ verfolgt. Wir fanden die Empfindlichkeit eines Staphylococcus albus-Stammes

	im Abtötungsversuch		im Atmungsversuch (gleicher Grad von Atmungshemmung)
gegenüber	Chinin	= 1	1
„	Optochin	= ca. 2	1,8
„	Eucupin	= ca. 20	17
„	Eucupinotoxin > Eucupin (Morgenroth und Bumke)		21
„	Vuzin	= 20—40	25—50

und betrachteten als besonders aussichtsvoll die Tatsache, daß Eucupinotoxin gegenüber der Atmung der Staphylokokkenaufschwemmung noch merklich wirksamer war als der Stammkörper, in Uebereinstimmung mit den von Morgenroth und Bumke[4]) auf Grund ganz anderer Versuchsanordnung gewonnenen Befunden.

Umgekehrt zeigten von Freund und mir angestellte Versuchsreihen an zerkleinerter überlebender Frosch- und Meerschweinchenmuskulatur, daß ihre Atmung durch die gleichen Antiseptika in ganz anderem Umfange gehemmt wird als die der Bakterien:

	Froschmuskulatur (gleiche Atmungshemmung)	Meerschweinchenmuskulatur
Chinin	1	1
Optochin	2	2
Eucupin	10	6
Eucupinotoxin	3,4	2
Vuzin	5,5	3,5

Aus den angegebenen Zahlen ist also ersichtlich, daß von den untersuchten Hydrochininhomologen gegenüber Muskelzellen Eucupin relativ am stärksten schädigend wirkt, gegenüber dem geprüften Bakterienstamm

1) Lipschitz u. Freund, Arch. exp. Path. u. Pharm. Bd. 99. 1923. S. 226.
2) Dtsch. med. Wochenschr. 1922. S. 793.
3) Arch. exp. Path. u. Pharm. Bd. 99. 1923. S. 226.
4) Dtsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 27. S. 729.

Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

das Vuzin, gleichgültig, ob die Aufhebung seiner Entwicklung oder seine Atmungshemmung als Indikator dient. Wenn damit bereits ein Hinweis auf die Ursache der größeren therapeutischen Brauchbarkeit der höhermolekularen Chininderivate gegeben war, die eben in der steigend divergierenden Empfindlichkeit von Bakterien und Körperzellen beruht, so war im folgenden zu untersuchen [1]), wie weit der Ausfall der an verschiedenen Bakterienarten angestellten Atmungsversuche mit den Resultaten der bisher üblichen bakteriologischen Untersuchungsmethoden übereinstimmt. Speziell wurde geprüft, ob eine Atmungsverminderung eintritt, wenn die Bakterien nur in ihrer Entwicklung gehemmt werden, oder ob sie mit einer Verminderung der Zahl lebender Keime, also mit ihrer Abtötung parallel geht. Es ergab sich in den folgenden Abtötungs- und Keimzählungsversuchen, daß sowohl bei Chininderivaten als bei Sublimat, Fuchsin und Acridinfarbstoffen die Atmungsverminderung weitgehend prozentisch mit der Keimreduktion übereinstimmt. Weder bei nachträglicher Entgiftung des Sublimats durch Schwefelammon, wobei eine große Zahl von gehemmten Bakterien wieder entwicklungsfähig wurde, noch bei Verwendung des schon in relativ sehr niedrigen Konzentrationen gegenüber Staphylokokken hemmend wirkenden Fuchsins fand sich irgendein Hinweis darauf, daß die Atmung stärker vermindert war als die Zahl lebender Keime. Es ist bemerkenswert und stellt ein von uns ursprünglich nicht erwartetes Resultat dar, daß die Atmung der untersuchten durch Antiseptica in ihrer Entwicklung gehemmten Bakterien nicht meßbar vermindert ist; dieser Befund erinnert an die von O. Warburg, J. Loeb und Wasteneys festgestellte Tatsache, daß die Entwicklung des befruchteten Seeigeleies durch Narkotikakonzentrationen gehemmt werden kann, die seine Atmung nur ganz unbeträchtlich herabsetzen.

Die Prüfung von Farbstoffen mit der Nitroreduktionsmethode wurde durch die Beobachtung ermöglicht, daß sich das zur kolorimetrischen Messung dienende m-Nitrophenylhydroxylamin in einfachster Weise aus dem Atmungsgemisch mit der gleichen Menge reinen Aethers im Reagenzglase ausschütteln läßt, daß aber keine Spur der geprüften Farbstoffe in die Aetherlösung übergeht und so das kolorimetrische Verfahren illusorisch macht.

Zusammenhang von Atmungshemmung und Verminderung der Keimzahl.

a) Vorversuche.

Kolleschalen mit Nähragar werden mit Staphylococcus albus (Höchster Stamm), aureus usw. beimpft und nach 24-stünd. Bebrütung bei 37° mit 5 ccm destill. Wasser pro Kolleschale abgeschwemmt, so daß eine dichte Bakteriensuspension entsteht, die durch sorgfältiges Mischen gleichmäßig gemacht wird. Je 5 ccm dieser Suspension werden mit je 5 ccm Alkaloidlösung steigender Konzentration in Reagenzgläsern vermischt und wiederum in zwei gleiche Hälften geteilt; die eine dient

1) Die nachfolgenden Versuche wurden teilweise in der Bakteriologisch-hygienischen Abteilung (Vorsteher Prof. Dr. H. Braun) des Hygienischen Universitätsinstituts (Direktor Geheimrat Prof. Dr. M. Neißer) ausgeführt. Beiden Herren bin ich für die Hilfe zu größtem Dank verpflichtet.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zur Anstellung der Abtötungsversuche; die anderen 5 ccm werden nach bestimmter Zeit mit 0,2 g reinem gepulverten m-Dinitrobenzol vermischt und bei 37° unter öfterem Umschütteln zur Reaktion gebracht. Nach mehreren (meistens 4—5) Stunden wird die Nitroreduktion durch Eiskühlung gehemmt, und die mehr oder weniger gelben Reaktionsgemische werden mit 5 ccm reinem Aether ausgeschüttelt, der den Farbstoff schnell vollständig aufnimmt. Die Aetherlösungen werden im Auten-

1) Staphylococcus albus.

Endkonzentr. Prom.	Von den Aufschwemmungen abgeimpft: sofort auf Loeffler	Bouillon	nach 21 Min. Loeffler	Bouillon	nach 4 Std. Loeffler	Bouillon	Nitroatmung von 21 Min. bis 5 Std. nach Mischung, Hemmung in Proz.
Optochin							
0	+	+	+	+	+	+	0
1,0	+	+	+	+	+	+	85
2,0	+	+	(+)	(+)	10 Kol.	0	
3,0	+	+	isol. Kol.	0	sehr vereinz. Kol.	0	
Vuzin							
0,2	+	+	+	+	reichl. isol. Kol.	(+)	90—100
0,3	+	+	(+)	(+)	isol. Kol.	(+)	
0,4	+	+	isol. Kol.	(+)	„ „	0	

2)

Optochin Prom.	sofort		nach 20 Min.		nach 5 Std.		von 20 Min. bis 5 Std. Stärke d. Gelbfärbg.
0	+	+	+	+	+	+	+++
2,0	+	+	+	+	reichl. isol. Kol.	0	(+)
3,0	+	+	+	+	ganz vereinz. Kol.	0	?

3) Staphylococcus aureus.

Eucupin Prom.	sofort		nach 25 Min.		nach 5 Std.		Atmung von 25 Min. bis 5 Std. Hemmung in Proz.
0	+	+	+	+	+	+	0
0,25	+	+	+	+	+	+	88,4
0,50	+	+	+	+	isol. Kol.	(+)	94,2
			Pyocyaneus				
0	+	+	+	+	+	+	0
0,25	+	+	+	+	+	+	16,7
0,50	+	+	+	+	+	+	38,9
					(ungehemmtes Wachstum)		

4) Coli

Optochin Prom.	sofort		nach 15 Min.		nach 5 Std.		Atmung von 15 Min. bis 5 Std. Hemmung in Proz.
0	+	+	+	+	+	+	0
0,3	+	+	+	+	+	+	5,1
1,0	+	+	+	+	isol. Kol.	+	30,9
2,0	+	+	+	+	0	0	51,3
3,0	+	+	+	+	0	0	64

Keimzählung in der Bakterienaufschwemmung: Nach Verdünnung 1:1 Milliarde wird 1 ccm der Verdünnung zu Agarplatten gegossen und 24 Std. bei 37° bebrütet; etwa 100 000 Keime auf der Platte. Also wurden für jeden Atmungsversuch etwa 250 000 Milliarden Bakterien benutzt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

rieth schen Kolorimeter gegen einen willkürlichen m-Nitrophenylhydroxylaminkeil eingestellt. Durch Benutzung von alkaloidfreien Kontrollen und Berechnung nach der oben angegebenen Formel[1]) erhält man Atmungshemmungswerte in Prozent der Normalatmung.

Die Abtötungsversuche wurden in der üblichen Weise vorgenommen; es wurde stets als Kontrolle (Ausschaltung von Hemmungswirkung) „sofort" nach Mischung auf Loeffler-Serum und auf Bouillon abgeimpft, das zweite Mal gleichzeitig mit dem Beginn des Atmungsversuchs im Parallelröhrchen, das dritte Mal gleichzeitig mit seiner Beendigung.

5) Staphylococcus albus. Versuch mit Sublimat.

Abgeimpft auf Loeffler-Serum:					Nitroatmung von 15 Min. bis $3^1/_2$ Std. Kein Zusatz von Schwefelammon. Hemmung in Proz.
Sublimat-Endkonzentr. Prom.	sofort	nach 15 Min.	nach $3^1/_2$ Std.	nach dann folgender 5 Min. langer Einwirkung von 4 Tropfen gesättigter Schwefelammonlösung zu 5 ccm Bakt.-Sublimatgemisch	
0	+	+	+	+	0
0,01	+	+	+	+	67,1
0,02	+	+	+	+	84,3
0,10	+	+	3—12 Kol.	üppiger Rasen	90—100

6) Wie Versuch 5.

	sofort	nach 15 Min.	nach 4 Std.	nach 10 Min. langer Schwefelammonwirkg.	
0	+++	+++	+++	+++	0
1:100 000	+++	+++	+++	+++	62,5
1: 20 000	+++	+++	red. Wachstum	Rasen ++	90—100
1: 15 000	+++	+++	ganz isol. Kol.	„ ++	
1: 10 000	+++	+++	50—75 Kol.	sehr reichl. Kol., z. T. konfluierend	

7) Wie Versuch 5, aber mit dreifacher Bakterienkonzentration.

	sofort	nach 15 Min.	nach $4^1/_4$ Std.	nach 10 Min. langer Schwefelammonwirkg.	
0	+++	+++	+++	+++	0
1:15 000	+++	+++	+++	+++	54,7
1:10 000	+++	+++	+++	+++	66,7

b) Versuche mit Bestimmung der Keimzahl und der Atmung.

8) Staphylococcus aureus. Versuch mit Optochin.

Abgeimpft:					nach 6 Std. Loeffler Bouillon	
Optochin Prom.	sofort Loeffler	Bouillon	nach 20 Min. Loeffler	Bouillon		
0	+	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+	+
1	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	vereinz. Kol.	(+)

nach $1^1/_2$ Std.,

also am Schlusse des 1. Viertels des Atmungsversuchs, wird aus den Reaktionsgemischen ohne Dinitrobenzol je 0,1 ccm entnommen, in bekannter Weise 1:1 Milliarde

1) s. S. 572.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verdünnt, und mit je 1 ccm dieser Verdünnung werden Agarplatten gegossen. Die Zahl der entstehenden Kolonien wird in Doppelversuchen mikroskopisch in je 30 Gesichtsfeldern bestimmt und auf die ganze Platte berechnet. Aus den beiden sich ergebenden Zahlen dient der Mittelwert zum Vergleich mit der Atmungshemmung der Bakterienkultur.

Optochin Prom.	Zahl der Keime auf der Platte	Abnahme der Keimzahl in Proz.	Atmung von 20 Min. bis 5½ Std. Hemmung in Proz.
0	243 000	0	0
0,5	142 000	42	43,6
1,0	16 200	93,3	88,7
2,0	35	99,99	ca. 93

9) Staphylococcus albus. Versuch mit Sublimat.

Mischung von je 5 ccm Bakterienkultur mit 5 ccm Giftlösung und Verteilung zu 5 ccm auf je 2 Reagenzgläser. Nach 15 Min. kommen beide in den Brutschrank, nachdem das eine unmittelbar vorher mit 0,2 g Dinitrobenzol versetzt wurde; nach weiteren 4 Std. Beendigung des Atmungsversuches und Keimzählung im Parallelröhrchen. Dann Zusatz von 4 Tropfen gesättigter Schwefelammonlösung; nach 10 Min. langer Einwirkung erneute Keimzählung. Zu den Keimzählungen dient 1 ccm einer Verdünnung von 1 : 10 Milliarden.

Sublimat	Keimzahl nach 4 Std.	Keimzahl nach Schwefelammon	Atmungshemmung in Proz.
	in Milliarden		
0	543 000	1 200 000	0
1 : 20 000	6	30	90—100

Bemerkenswert scheint die — in weiteren Versuchen sich bestätigende — Wachstumsbegünstigung durch Schwefelammon auch in giftfreiem Milieu, die allerdings von dem Ergebnis der Sublimatversuche weit übertroffen wird: Die Entgiftung des Quecksilbers im Bakterienleib durch Schwefelammon führt zu einer sehr merklichen Aufhebung der ursprünglichen Wachstumshemmung.

10) Staphylococcus albus. Versuche mit Sublimat.

Mischung von je 7,5 ccm Bakterienkultur mit 7,5 ccm Giftlösung und gleichmäßige Verteilung auf je 3 Reagenzgläser. Das eine, nach 15 Min. mit Dinitrobenzol versetzt und weitere 3 Std. bei 37° gehalten, dient zum Atmungsversuch; das zweite nach 15 Min. in den Brutschrank gestellt, dient nach weiteren 30 Min. für die 1. Gruppe von Keimzählungen vor und nach 10 Min. langer Einwirkung von Schwefelammon (4 Tropfen gesättigter Lösung auf 5 ccm Bakterienaufschwemmung). Das dritte Röhrchen dient zu Keimzählungen, die (nach 3 Std.) gleichzeitig mit dem Abschluß des Atmungsversuchs angestellt werden — wiederum vor und nach Schwefelammonzusatz. — Keimzählung in 10 Gesichtsfeldern von mit 1 ccm verdünnter Kultur gegossenen Agarplatten; alles Mittelwerte von Doppelbestimmungen.

Sublimat	Keimzahl nach 45 Min. vor Schwefelammon	Keimzahl nach 45 Min. nach Schwefelammon	Keimzahl nach 3 Std. 15 Min. vor Schwefelammon	Keimzahl nach 3 Std. 15 Min. nach Schwefelammon
A. (In 10 Gesichtsfeldern; Verdünnung 1 : 1 000 000 000 Milliarden)				
0	361	211	132	381
1 : 50 000	116	306	0	62
B. (In 10 Gesichtsfeldern; Verdünnung 1 : 100 000 000 000 Milliarden)				
0	230	327	55	160
1 : 50 000	130	290	0	35

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Resultat:

		30 Min. 3 Std. nach Beginn des Atmungsversuchs	Atmung von 15 Min. bis 3¼ Std. Hemmung in Proz.
0			0
1 : 50 000	Keimreduktion	0 % ca. 85%	92,3
	Wachstumshemmung	56 „ 100 „	
		(Mittelwerte aus A und B)	

11) Staphylococcus albus.

Bestimmung der durch Sublimat abgetöteten Keime unter Ausschaltung der nur gehemmten durch 10 Min. lange Einwirkung von Schwefelammon; in Parallelröhrchen Bestimmung der Atmungsverminderung der gleichen Kultur während der gleichen Zeit ohne Schwefelammonzusatz. — Mischung von je 5 ccm Bakterienaufschwemmung mit Giftlösung und Verteilung auf je 2 Röhrchen; nach 15 Min. wird je eines mit 0,2 g Dinitrobenzol versetzt und beide in den Brutschrank gestellt; nach 2 Std. 15 Min. Atmungsmessung in dem einen und Zusatz von Schwefelammon zum Parallelröhrchen; nach 10 Min. in diesem Keimzählung nach Verdünnung 1 : 10 000 000 Milliarden; alles Mittelwerte von mit je 1 ccm doppelt gegossenen Agarplatten.

Sublimat	Keimzahl auf der Platte	Abnahme der Keimzahl Proz.	Atmungshemmung Proz.
0	130 000	0	0
1 : 100 000	50 000	61,6	55,1
1 : 50 000	24 000	81,6	64,7
1 : 20 000	5 000	96,2	92

12) Staphylococcus albus.

Wiederholung wie Versuch 11. Keimzählung nach Verdünnung 1 : 10 000 000 Milliarden in je 10 Gesichtsfeldern.

Sublimat	Keimzahl	Abnahme der Keimzahl Proz.	Atmungshemmung Proz.
0	356	0	0
1 : 50 000	120	66	76,7
1 : 20 000	73	80	93

13) Staphylococcus albus.

Wiederholung wie Versuch 11 und 12. Keimzählung nach Verdünnung
a) 1 : 10 000 000 Milliarden,
b) 1 : 1000 000 000 Milliarden.

Sublimat	Keimzahl in 10 Gesichtsfeld. (Mittelwerte) a	b	Abnahme der Keimzahl in Proz. (Mittelwert von a u. b)	Atmungshemmung Proz.
0	500	273	0	0
1 : 100 000	333	237	23,3	18
1 : 50 000	163	108	64	73,3
1 : 20 000	99	57	80	84,4

14) Staphylococcus albus. Versuche mit Fuchsin.

Je 5 ccm Bakterienkultur + 5 ccm Farbstofflösung, in zwei gleiche Hälften geteilt; nach 15 Min. Zusatz von 0,2 g Dinitrobenzol zu dem einen Röhrchen. Dann werden beide in den Brutschrank gestellt. Nach weiteren 2 Std. Atmungsversuch durch Abkühlen und Ausschütteln mit je 5 ccm Aether beendet; aus dem Parallelröhrchen wird eine Verdünnung 1 : 1000 000 000 Milliarden hergestellt und mit je 1 ccm 2 Agarplatten gegossen. Keimzählung in je 10 Gesichtsfeldern der doppelt gegossenen Platten.

Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Fuchsin	Keimzahl in 10 Gesichtsfeldern (Mittelwert)	Abnahme der Keimzahl in Proz.	Atmungshemmung in Proz.
0	68	0	0
1:50 000	40	41,2	38,8
1:10 000	24	64,7	78,8
1: 2 000	2	97	90—100

15) Staphylococcus albus.

Wiederholung von Versuch 14. Keimzählung nach Verdünnung 1:100 000 000 000 Milliarden in 10 Gesichtsfeldern der doppelt gegossenen Platten.

Fuchsin	Keimzahl (Mittelwert)	Abnahme der Keimzahl in Proz.	Atmungshemmung in Proz.
0	47	0	0
1:50 000	34	28	24,5
1: 2 000	0 (Totalzählung: 6)	100	91

III.

Nach Klärung der Frage bezüglich des Zusammenhangs von Atmungsverminderung in Bakterienkulturen mit der Abnahme der Zahl lebender Keime wurde in Fortsetzung der von H. Freund und mir angestellten Versuche die relative Wirkungsstärke von Chininderivaten, Acridinfarbstoffen und Sublimat gegenüber der Atmung verschiedener Bakterienarten vergleichend geprüft.

1. Da Streptokokken viel zarter als Staphylokokken auf Nähragar wachsen, andererseits aber eine erhebliche Bakterienkonzentration zu kurzdauernden Atmungsmessungen mittels der Nitroreduktionsmethode erforderlich ist, wurden die beimpften Kolle-Schalen nach 24 Std. nur mit so wenig destilliertem Wasser abgeschwemmt, daß 1 ccm Bakterienkultur dem Material einer Kolle-Schale entspricht. Je 2,5 ccm Bakterienkultur wurde mit 2,5 ccm Giftlösung vermischt, nach 20 Min. mit 0,2 g Dinitrobenzol versetzt und 5 Std. bei Brutschranktemperatur unter öfterem Umschütteln aufbewahrt, dann eisgekühlt und mit 5 ccm Aether extrahiert; die gelb gefärbten Aetherextrakte werden im Autenriethschen Apparat kolorimetriert.

Endkonzentration des Desinfizienz Prom.		Kolorim.-Zahl	Atmungshemmung Proz.	60 Proz. Hemmung wird bewirkt durch Prom.	60 Proz. Hemmung wird bewirkt durch Millimol	Verhältnis der molaren Wirkungsstärken
Aq. dest.		51	0			
Chin. mur.	0,625	71	40,8	2,2	6	1
	1,25	76,5	52,85			
	2,5	81,5	62,25			
Eucupin. bihydrochlor.	0,0625	57,5	13,26	0,1075	0,232	25,8
	0,125	88	75,5			
	0,25	86,5	72,4			
Vucin bihydrochlor.	0,025	65	28,56	0,04	0,08	75
	0,05	88,5	76,5			
	0,1	89	77,5			
Trypaflavin, sauer	2,5	86	71,4	2,1		ca. 1 (prozentisch)

Die Wirkungsquotienten der Chininderivate, bezogen auf Chinin, werden zweckmäßig molar berechnet, für die der Acridinfarbstoffe, bezogen auf Chinin, ist vorläufig die prozentische Ausdrucksweise dem praktischen Bedürfnis mehr entsprechend.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2. Wie Versuch 1. Streptokokken.

Endkonzentration des Desinfizienz Prom.		Kolorim.-Zahl	Atmungshemmung Proz.	80 Proz. Hemmung wird bewirkt durch Prom.	Millimol	Verhältnis der molar. prozent. Wirkungsstärken	
Aq. dest.		40	0				
Chin. mur.	1,25	85	75	2,5	6,8	1	1
	2,5	89	81,6				
Eucupin. bihydrochlor.	0,0625	83	71,6				
	0,125	89	81,6	0,125	0,275	24,7	
	0,25	> 90	> 83				
Trypaflavin, sauer	2,5	88	80	2,5			1
	5,0	90,5	83,4				
Rivanol	5,0	79	65	6,2			0,4

3. Wie Versuch 1. Streptokokken. Atmung von 15 Min. bis 5 Std. nach Mischung der Bakterienkulturen mit den antiseptischen Lösungen.

Endkonzentration des Desinfizienz Prom.		Kolorim.-Zahl	Atmungshemmung Proz.	60 Proz. Hemmung wird bewirkt durch Prom.	Verhältnis der prozentischen Wirkungsstärken
Aq. dest.		7	0		
Chin. mur.	1,25	64	61,3	1,2	1
	2,5	83,5	82,2		
Trypaflavin, sauer	1,25	80	78,5	0,938	1,28
	2,5	90	89,2		
Rivanol	1,25	44	40	3,75	0,32
	2,5	57	53,8		
	5,0	69	66,7		

4. Staphylococcus albus.

Abschwemmung von 24-Std.-Kulturen in 5 ccm Wasser pro Kolle-Schale. Je 2,5 ccm der Aufschwemmung wurde mit 2,5 ccm Giftlösung vermischt; nach 15 Min. Zusatz von je 0,2 g Dinitrobenzol und Aufbewahren bei 37° weitere 2 Std. ang. Extraktion mit 5 ccm Aether, Kolorimetrie.

Endkonzentration des Desinfizienz Prom.		Kolorim.-Zahl	Atmungshemmung Proz.	60 Proz. Hemmung wird bewirkt durch etwa Prom.	Verhältnis der prozentischen Wirkungsstärken
Aq. dest. I		56	0		
II		53 54			
Chin. mur.	1,0	71	37	1,5	1
	2,0	92	83		
Trypaflav., neutr. konzentr.	2,5	56	0	—	(0)
	5,0	64	21,7		
Trypaflav., sauer konzentr.	5,0	83	63	5,0	0,33
	10,0	88	74		
Rivanol	2,5	89	76	2,0	0,75
	5,0	90	78		

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

5. Wiederholung. Staphylococcus albus. Atmungsversuch von 10 Min. nach Mischung bis $3^3/_4$ Std. bei 37°.

Endkonzentration des Desinfizienz Prom.		Kolorim.-Zahl	Atmungshemmung Proz.	85 Proz. Hemmung wird bewirkt durch etwa Prom.	Verhältnis der prozentischen Wirkungsstärken
Aq. dest. I		29	0		
II		28	29		
Chin. mur.	2,0	91	87,3	2	1
Trypaflavin, sauer	1,25	44	21,1		
	5,0	83	76	10	0,2
	10,0	87	81,7		
Rivanol	1,25	49	28,2		
	2,5	ca. 90	86	2,5	0,8

6. Staphylococcus aureus (Nr. 6181). Atmungsversuch von 20 Min. nach Mischung bis 5 Std. bei 37°.

Endkonzentration des Desinfizienz Prom.		Kolorim.-Zahl	Atmungshemmung in Proz.	60 Proz. Hemmung wird bewirkt durch Prom.	Verhältnis der prozentischen Wirkungsstärken
Aq. dest. I		35,5	0		
II		33,5	34,5		
Chin. mur.	1,0	59,5	38,2		
	2,0	87	80,1	1,6	1
Trypafl., neutr.	2,5	20	Steigerung v. 22,1		
	5,0	0	„ „ 52,6	—	(0)
Trypafl,, sauer	1,25	48	20,6		
	2,5	75	61,8	2,4	0,67
	5.0	86	78,6		
Rivanol	1,25	67,5	50,3		
	2,5	73	58,7	> 5	< 0,32
	5,0	68	51,1		
Sublimat	0,005	25	Steigerung v. 14,5		
	0,01	62	42	0,018	88,9
	0.02	76,5	63,3		

Wie aus den angeführten Versuchen ersichtlich, ist die relative Wirkungsstärke der höheren Hydrocupreinhomologen gegenüber — selbst sehr dichten — Aufschwemmungen von Streptokokken noch erheblich höher als gegenüber dem von Lipschitz und Freund früher geprüften Staphylococcus albus-Stamm.

	Molare Wirkungsquotienten. Staphyl alb.	Streptococc.
Chinin	1	1
Eucupin	17	25,8
Vuzin	25—50	75

Auch die hier in Erscheinung tretende starke Wirksamkeit des Sublimats (Staphylococcus aureus, Chinin : Sublimat = 1 : 90) stimmt gut zu den mit Hilfe anderer Methoden gemachten Erfahrungen.

Dagegen ist auffällig, wie wenig die Acridinfarbstoffe die Bakterienatmung herabsetzen — auch bei Verwendung von recht hohen Konzentrationen: Saures Trypaflavin wirkt auf Streptokokken nur wenig stärker als Chinin, auf Staphylococcus aureus und albus sogar erheblich schwächer. Neutraltrypaflavin ist bei allen geprüften Kon-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zentrationen gegenüber der Atmung von Staphylokokken überhaupt unwirksam, auch Rivanol gegenüber Staphylokokken und Streptokokken wesentlich schwächer wirksam als Chinin. Die atmungsschädigende = abtötende Kraft der Acridinfarbstoffe gegenüber Staphylokokken und Streptokokken ist also bei der in Betracht kommenden Einwirkungsdauer sehr gering, verglichen mit der Chiningruppe oder gar Sublimat. Die Gründe für ihre trotzdem vorhandene therapeutische Brauchbarkeit ergeben sich erst bei Untersuchung des Verlaufs der Muskelatmung unter ihrer Einwirkung.

Versuche mit Nitroanthrachinon[1]) als Atmungsindikator.

1. Hemmungs- und Atmungsversuch in Bouillon.

Staphylococcus albus; 24-stünd. Bouillonkultur 1 : 10 verdünnt; davon je 0,1 ccm Einsaat in Röhrchen, die je 4 ccm Bouillon, resp. 1-prom. Nitroanthrachinonbouillon und 1 ccm Alkaloidlösung enthalten.

Röhrchen	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Aq. dest. ccm	0	0,5	0,75	0	0,25	0,5	0,75	0,9	1,0
	.	.	.	1 : 5	1 : 5	1 : 5	1 : 5	1 : 5	.
1-proz. Optochinlösung*) ccm	1,0	0,5	0,25	1,0	0,75	0,5	0,25	0,1	0
Optochin-Endkonzentr. Prom.	2	1	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,04	0
Beobachtungszeit: 7 Tage. Wachstum	0	0	0	0	0	0	+	+	+
Farbstoffbildung	0	0	0	0	0	0	+	+	+

*) Bei Optochinzusatz in 1—5 Ausflockung von Nitroanthrachinon.

Hemmende Grenzkonzentr. von Optochin 1 : 5000

Röhrchen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Aq. dest. ccm	0	0,5	0,75	0	0,5	0,75	0	0,5	0,75	0,9	1,0
2-prom. Eucupinlösung ccm	. 1,0	. 0,5	. 0,25	1 : 10 1,0	1 : 10 0,5	1 : 10 0,25	1 : 100 1,0	1 : 100 0,5	1 : 100 0,25	1 : 100 0,1	. 0
Eucupin-Endkonzentr. Prom.	0,4	0,2	0,1	0,04	0,02	0,01	0,004	0,002	0,001	0,0004	0
Wachstum	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+
Farbstoffbildung	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+

Hemmende Grenzkonzentr. von Eucupin 1 : 50000

2. Vergleichende Atmungsversuche mit m-Dinitrobenzol und Nitroanthrachinon.

a) Staphylococcus albus von Kolleschalen mit je 5 ccm Aqua dest. abgeschwemmt; je 2,5 ccm Aufschwemmung mit Alkaloidlösung, 0,2 g Dinitrobenzolpulver und Aqua dest., resp. 2 ccm 2-prom. sterilisierter Nitroanthrachinonlösung und Aqua dest. auf 5,0 ccm verdünnt und 5½ Std. bei 35° aufbewahrt. Die Dinitrobenzolversuche mit je 5 ccm Aether extrahiert und kolorimetriert, die Nitroanthrachinonversuche durch Verdünnen mit Wasser auf gleiche Farbintensität gebracht.

Eucupin-Endkonzentration (Prom.)	Dinitrobenzol-Redukt. Hemmung in Proz.	Aminoanthrachinonbildung	Hemmung in Proz.
0	0	1	0
0,05	82	ca. ¼	ca. 75

b) Staphylococcus aureus. Je 5 ccm Bakterienaufschwemmung + 4 ccm Alkaloidlösung, nach Mischung in zwei Hälften zu je 4,5 ccm geteilt, zu jedem ersten Röhrchen wird 0,5 ccm Aqua dest. und 0,2 g Dinitrobenzol gefügt, zu jedem zweiten Röhrchen 0,5 ccm 1-proz. Nitroanthrachinonlösung. Reduktionsdauer 4½ Std. bei 37°.

1) Eine Probe dieser Substanz verdanke ich der Freundlichkeit von Herrn Kollegen Bieling.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Alkaloid-Endkonzentration (Prom.)	Dinitrobenzol-Reduktion		Nitroanthrachinonversuch, Farbstoffbildung
	Kolorim.-Zahl	Hemmung in Proz.	
0	24	0	++++
Chin. mur.			
1,0	48,5	32,2	++++
2,0	86	81,5	++
3,0	89	85,5	0
Optochin. hydrochlor.			
0,5	36	15,8	++++
1,0	83,5	78,3	++
2,0	>90	>87	0

3. Empfindlichkeit der Dinitrobenzol- und Anthrachinonreduktion.

Es werden Bakterienaufschwemmungen von Staphylococcus albus in fallender Konzentration hergestellt und schließlich zu je 2,5 ccm einerseits mit 2,5 ccm Aqua dest. + 0,2 g Dinitrobenzol vermischt, andererseits mit 2,5 ccm 2-prom. Nitroanthrachinonlösung. Atmungsdauer $5^1/_2$ Std. bei 35°.

Bakterienkonzentration	Nitrophenylhydroxylaminbildung	Aminoanthrachinonbildung
1	+++	1
$^1/_2$	+	$^1/_2$
$^1/_4$	0	$^1/_{2^{75}}$
$^1/_8$	0	$^1/_8$
$^1/_{16}$	0	$^1/_{16}$ (schwach +)
$^1/_{32}$	0	0

Die Nitroanthrachinonreduktion erfordert also nur ca. $^1/_4$—$^1/_8$ der Bakterienkonzentration wie die Dinitrobenzolreduktion und besitzt den weiteren Vorteil, daß die Reaktion im homogenen Lösungsmittel vor sich geht und bis zum Reduktionsendprodukt führt (Amin). Diese Vorzüge kommen aber in noch höherem Maße der direkten Gaswechselmessung zu, auf die beim Studium biologischer Funktionen der Bakterienzelle (etwa Beziehung der Virulenz zur Atmungsintensität usw.) zurückzugreifen wäre. Andererseits ist die Anwendung des m-Dinitrobenzol als Atmungsindikator durch die Tatsache begünstigt, daß in zahlreichen Versuchsreihen die Beziehungen seines Reduktionsmechanismus zum Atmungsvorgang der Klärung nahe gebracht wurden, und daß auch in komplizierten Fällen seine Anwendung erfolgreich war.

IV.

Prüfung der Wirkungsstärke der gleichen Desinfizientien gegenüber der Atmung von zerkleinerter Meerschweinchenmuskulatur.

Methodik: siehe Lipschitz[1]), Ders. und Helmuth Freund[2]).

Die von Fett, Sehnen, Blut usw. möglichst vollständig befreite Muskulatur eines frisch entbluteten Meerschweinchens wird mit schwach gebogenen Scheren fein zerschnitten, bis eine gleichmäßige Masse entsteht. Von dieser werden 2 g-Portionen abgewogen und in 10 ccm der zu untersuchenden Lösungen in 25 ccm Erlenmeyerkölbchen suspendiert, die verschlossen werden. Nach etwa 15 Min. wird je 0,2 g Dinitrobenzol zugefügt und unter mehrfachem Umschütteln mehrere Stunden bei 37° aufbewahrt. Dann wird im Eisschrank abgekühlt und das ganze Gemisch mit je 10 ccm Aether ausgeschüttelt; die abgehobenen Aetherextrakte werden unter Vermeidung von Verdunstung im Autenriethschen Apparat kolorimetrisch eingestellt.

Nach dem Ergebnis dieser Untersuchungen ist es nun möglich, den Wirkungswert der geprüften Antiseptika als Wunddesinfektionsmittel zahlenmäßig zu ermitteln, indem man einen Quotienten bildet, der im

1) Pflüg. Arch. Bd. 196. 1922. S. 476.
2) Arch. exp. Path. u. Pharm. Bd. 99. 1923. S. 226.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1. Grundflüssigkeit 0,75-proz. NaCl-Lösung. Atmungsdauer $4^1/_2$ Std.

Endkonzentration des Desinfizienz (Prom.)		Kolorim. Zahl	Atmungshemmung in Proz.
Aq. I.		42	0
„ II.		37 } 40	
Chin. mur.	1,0	76,5	60,8
Sublimat	0,01	47	11,7
„	0,1	59,5	32,5
Trypafl. neutr.	0,25	48	
„ „	0,5	46,5	11—19
„ „	1,0	51,5	
Trypafl. sauer	0,25	55	25
„ „	0,5	55,5	25,8
„ „	1.0	66	43,3
Rivanol	0,5	52	20
„	1,0	55,5	25,8
1-prom. Nitrophenyl-hydroxylaminlösung		23,5	

2. Wiederholung. Grundflüssigkeit: Aqua dest. Atmungsdauer 5 Std.

Endkonzentration des Desinfizienz (Prom.)		Kolorim.-Zahl	Atmungs-hemmung in Proz.	ca. 37 Proz. Hemmung wird bewirkt durch Prom.	Verhältnis der prozent. Wirkungsstärken
	0	15	0		
Chin. mur.	1,0	37	26		
„ „	2,0	47	37,6	2	**1**
Sublimat	0,1	13	0		
„	0,5	48	38,8	0,5	**4**
Trypafl. neutr.	1,0	<10	—		
„ „	2,0	21	7		
„ „	5,0	48	38,8	5,0	**0,4**
Trypafl. sauer	1,0	15	0		
„ „	2,0	55	47	1,8	**1,11**
„ „	5,0	89,5	87,6		
Rivanol	0,5	23	9,4		
„	1,0	26	13		
„	2,0	33	21,2	4,5	**0,44**
„	5,0	51	42,3		

Zähler und Nenner vergleichbare Größen enthält. Der Zähler stellt die relative Atmungsschädigung der in Betracht kommenden Bakterienarten dar; diese aber ist nach den im Abschnitt II dargestellten Versuchen identisch mit dem relativen Abtötungsvermögen der Antiseptica. Der Nenner des therapeutischen Quotienten wird gebildet durch die relative Atmungsschädigung der in Betracht kommenden Wirtszellen, in unserem Falle des Muskelgewebes.

Dieses Wirkungsverhältnis wird zweckmäßig als „Therapeutischer Quotient A“ bezeichnet, und nimmt in den bisher untersuchten Fällen folgende Werte an (s. zweite Tabelle S. 585)

Leider ist es mir bisher nicht gelungen, ausreichende Mengen lebensfrischer Menschenmuskulatur zu bekommen, um die entsprechenden Quotienten auch für das praktisch wichtige Wirtsgewebe zu ermitteln; es

Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

3. Wiederholung. Grundflüssigkeit: 0,3 proz. NaCl-Lösung.

Endkonzentration des Desinfizienz (Prom.)	Kolorim.-Zahl	Atmungshemmung in Proz.	ca. 60 Proz. Hemmung wird bewirkt durch Prom.	Verhältnis der prozent. Wirkungsstärken
0 I.	53	0		
0 II.	53	0		
Chin. mur. 1,0	74	44,7		
„ „ 2,0	83	63,8	1,8	1
„ „ 3,0	86,5	71,3		
Trypafl. neutr. 1,25	73	42,5		
„ „ 2,5	77	51		
„ „ 5,0	78,5	54,3	>5	<0,36
Trypafl. sauer 1,25	81	59,6	1,25	1,44
„ „ 2,5	90	78,7		
„ „ 5,0	>95	90—100		
Rivanol 1,25	73	42,5		
„ 2,5	83	63,8	2,3	0,78
„ 5,0	88	74,5		

Die Wirkungsstärke der Chininderivate gegenüber dieser Zellart wurde schon bestimmt (Lipschitz und Freund).

Therapeutischer Quotient A.

Substanz	Staphyl. alb. / Meerschw.-Musk.	Streptokokken / Meerschw.-Musk.	Staph. alb. / Froschmusk.	Streptokokk. / Froschmusk.
Chinin	$\frac{1}{1} = 1$	$\frac{1}{1} = 1$	$\frac{1}{1} = 1$	$\frac{1}{1} = 1$
Optochin	$\frac{1,8}{1,8} = 1$		$\frac{1,8}{2,2} = 0,8$	
Eucupin	$\frac{16,7}{6} = $ ca. 3	$\frac{25,8}{6} = 4,3$	$\frac{16,7}{10} = 1,7$	$\frac{25,8}{10} = 2,6$
Vuzin	ca. $\frac{35}{3,5} = 10$	$\frac{75}{3,5} = 20$	ca. $\frac{35}{5,5} = 6,4$	$\frac{75}{5,5} = 14$
Trypafl.sauer	$\frac{0,25}{1,25} = 0,2$	$\frac{1,1}{1,25} = 1$		
„ neutr.	$\frac{0}{0,35} = 0$			
Rivanol	$\frac{0,75}{0,4} = 2$	$\frac{0,33}{0,4} = 1$		
	Staphyl. aureus / Meerschw.-Musk.			
Sublimat	$\frac{88,9}{4} = 22$			

ist jedoch nicht wahrscheinlich, daß wesentliche Zahlenverschiebungen eintreten werden, da die Quotienten selbst für Frosch- und Meerschweinchenmuskulatur ziemlich nahe beieinander liegen.

Die therapeutische Bedeutung des Vuzins mit seinem relativ hohen Quotienten 10 für Staphylokokken und 20 für Streptokokken tritt deutlich hervor. Wenn trotzdem sich das Vuzin als nicht voll ausreichend für praktische Bedürfnisse gezeigt hat, so beweist das nichts gegen den Wert dieser Prüfungsmethode, sondern nur, daß man die Ansprüche an Antiseptika hinsichtlich ihres therapeutischen Quotienten noch erheblich steigern muß; dann wird man auch die Wirkungsstärke des willkürlich

Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

gewählten Chinins als Basis verlassen können und ein besser brauchbares Mittel dazu benutzen. Damit ist die Richtung zur Ermittlung neuer Mittel gewiesen, die mit einer gesteigerten bakteriziden Wirkung eine verminderte Wirtsschädigung verbinden sollten.

Diesem Ziele scheinen nun die Acridinfarbstoffe wieder erheblich ferner zu stehen, und es ist die Frage zu prüfen, wie sich dieses Ergebnis mit den zahlreichen günstigen Erfahrungen der Kliniker vereinigen läßt.

Wir sahen oben (Abschn. II), daß sich die Hemmungswirkung von Antisepticis im Bakterienatmungsversuch nicht ausdrückt, wissen aber, daß für viele therapeutische Zwecke eine Entwicklungshemmung der Bakterien ausreicht und bewirkt, daß die antiparasitären Kräfte des Wirtsorganismus selbst die Oberhand gewinnen. Gerade für die Acridinfarbstoffe ist nun auch durch Reagenzglasversuche nachgewiesen, daß ihnen schon in niedrigen Konzentrationen eine starke Hemmungswirkung zukommt, und andererseits geht aus den oben wiedergegebenen Muskelatmungsversuchen hervor, daß sie nur eine recht geringe Schädigung des Wirtsgewebes verursachen, die im Falle des Neutraltrypaflavin und Rivanol nur ein Drittel der z. B. durch Chinin hervorgerufenen beträgt. Es hat sich also gezeigt, daß auch unsere besten chemotherapeutischen Mittel einen noch zu kleinen therapeutischen Quotienten A besitzen, und daß manche, wie die Acridinfarbstoffe, sogar mit einem recht niedrigen, dem des Chinin ähnlichen, wirken. Es wäre unrichtig und den praktischen Erfolgen nicht entsprechend, wenn man derartige Mittel auf Grund des ungenügenden Quotienten A von der therapeutischen Anwendung ausschalten wollte; im Gegenteil ergibt sich die Notwendigkeit, die Wirksamkeit von Antisepticis, die zwar schwach bakterizid, aber stark entwicklungshemmend sind und weitgehende Unschädlichkeit für den Wirtsorganismus besitzen, durch einen anderen Ausdruck zu kennzeichnen:

$$\text{„Therapeutischer Quotient B“} = \frac{\text{relatives Bakterienhemmungsvermögen}}{\text{relative Gewebsatmungsschädigung.}}$$

Dieser enthält nun nicht mehr im Zähler und Nenner ganz adäquate Größen und besitzt daher einen geringeren theoretischen Wert.

Die Tatsache aber, daß sein Nenner nunmehr eine quantitativ bestimmbare eindeutige Größe enthält, mag immerhin Veranlassung zu konkreteren Untersuchungen und Vorstellungen werden, als sie auf Grund der früher ausgeführten summarischen Bestimmung der Dosis letalis möglich waren.

Für die Wertbestimmung neuer therapeutischer Antiseptika entsteht — unbeschadet der Anwendung aller anderen Prüfungsmethoden — die Forderung zur Ermittelung der beiden angegebenen therapeutischen Quotienten. In je höherem Maße ein neues Mittel den theoretisch zu stellenden Forderungen entspricht, um so größer wird sowohl Quotient A als B sein; aber selbst bei unbefriedigendem Quotienten A mag ein hoher Quotient B die weitere Prüfung des Mittels rechtfertigen.

Inhalt.

Lipschitz, Werner, Untersuchungen über die therapeutische Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln durch Messung der Zellatmung, S. 569.

Okuda, Sukeyasu, Ueber aktive Milzbrandimmunisierung, S. 562.

Rabinowitsch, Marcus, Ueber den Flecktyphuserreger, S. 497.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

589.05
CE
Ser 2a
v. 90

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 90 enthaltenen Arbeiten.

Amato, Alessandro, Untersuchungen über Scharlach. 229
Arai, K., Experimentelle Studien über die Ausscheidungswege der Paratyphus B-Bazillen im Körper der Organismen. 212
Bach, F. W., u. Quast, P., Ueber Spirochäten im Darme von Cyclostoma elegans Drap. und ihre Beziehungen zu Trichodinopsis paradoxa Clap. 457
Battaglia, Mario, Encephalitis bei experimenteller Trypanosomiasis. 94
Bauer, Karl, Die Einwirkung einiger Diuretika auf Bakterien. 42
Becker, Rudolf, Beiträge zu einer Lebensgeschichte der Pferdebandwürmer. 168
Bering, H., Die Meinickesche Lueströbungsreaktion mit cholesterinfreien Balsamextrakten. 478
Bieling, R., Eine Methode zur quantitativen Bestimmung der Atmung von Mikroorganismen und Zellen. 49
Breinl, F., u. Mischer, M., Variationserscheinungen bei Staphylococcus pyogenes aureus. 224
Breitmann, M. J., Eine Methode der quantitativen Messung der thermometrischen Belastung bei Infektionskrankheiten. 301
Burgarth, H. s. **Martini, E.**
Csontos, Josef, Der Hühnertyphus und seine Bekämpfung. 264
Engering, Paul, Meningitis durch influenzaähnliche Bazillen. 21
Fischer, M. s. **Breinl, F.**
Flu, P. C., Das Verhalten eines inagglutinablen Flexner-Bakterium gegenüber Anti-Flexner-Bakteriophagen. 374
— —, Die Natur des Bakteriophagen und die Bildung von Bakteriophagen in alten Bouillonkulturen pathogener Mikroorganismen. 362
Freudmann, S. s. **Kabelík, J.**
Fukuhara, Y., Eine neue Methode zur Bemessung des Bakterizidietiters. 391
Galli-Valerio, B., Beobachtungen über Culiciden, nebst Bemerkungen über Tabaniden und Simuliden. 38
Gildemeister, E., Ueber Gewinnung keimfreier Schutzpockenlymphe. 109
—, u. **Herzberg, Kurt,** Ueber den Wert des Kartoffelstärkepeptonwassers nach Kodama und Takeda für die praktische Choleradiagnose. 53
Gorodkowa, A. A. s. **Zlatogoroff, S. J.**
Gutfeld, Fritz v., u. Weigert, Edith, Zur Serodiagnostik der Tuberkulose mittels Komplementbindung. 134
Hage, Das Fortbestehen der Gruber-Widalschen Reaktion nach Typhusschutzimpfungen. 209
Hartmann, I. s. **Hopffe, A.**
Herzberg, Kurt, Die Beteiligung des Sauerstoffes bei der oligodynamischen Metallwirkung. I. Mitteilung. 113
— —, s. **Gildemeister, G.**
Hesselbach, Kurt, Entgegnung auf die Bemerkung von Prof. Martin Mayer zu der Arbeit von Kurt Hesselbach: Die trypanozide Wirkung von „Bayer 205" auf Trypanosoma equiperdum. 271
Heuer, G., Ueber neue Peptonpräparate für die bakteriologische Praxis. 491
Hirn, Georg s. **Salus, G.**
Höppli, R. s. **Mayer, Martin.**
Hopffe, A., u. Hartmann, I., Bacillus mycophagus, nova species, ein bewegliches pathogenes Kapselbakterium. 305
Ishiwara, Fusao, Beitrag zur Frage des Influenzaerregers nach Versuchen an Menschen und Tieren. 55
Ishiwara, Kikutaro, u. **Ogata, Norio,** Vorläufige Mitteilung über den Erreger der Tsutsugamushikrankheit. 164
Janzen, J. W., u. Wolff, L. K., Ueber den Typhusbakteriophag. 6
— — Ueber die Reinigung der Pockenlymphe. 41
Kabelík, J., u. Freudmann, S., Ueber den Einfluß von Salzen auf die Vibrionen der Cholera asiatica. 407
Kadisch, Ernst, Ueber Sauerstoffindikatoren in der Bakteriologie. 462
Karetnikowa, W. W. s. **Zlatogoroff, S. J.**
Kathe u. Schaede, Eine Typhusepidemie und ihre wirtschaftlichen Folgen. 129

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kiefer, K. H., Ein Beitrag zur Lebensfähigkeit der Bakterien. 1
Klein, B., Ueber Gärungsagglutination und Gärungsbakterizidie. II. Mitteilung, 198
Konrádi, Daniel, Auffallend kurze Inkubationen bei menschlicher Wut. 162
— —, Die Tätigkeit der Sektion im Jahre 1921. 299
Korach, Alfred, Das Polyagglutinoskop. 206
Kotlán, A., Ueber Sparganum Raillieti Rátz und den zugehörigen geschlechtsreifen Bandwurm Dibothriocephalus Raillieti Rátz. 272
— —, Zur Kenntnis der Darmflagellaten aus der Hausente und anderen Wasservögeln. Vorläufige Mitteilung. 24
Kratzeisen, Ernst, Ueber postmortale Spirochätenvermehrung in der Leiche. 91
Kressler, Alice, Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Ausflockungsreaktion nach Bruck zur Luesdiagnose. 488
Kristensen, Martin, Untersuchungen über hämoglobinophile Bakterien. 182
Lemm, Hildegard, Zur Frage der Agglutination der Pfeifferschen Influenzabazillen und ihrer diagnostischen Verwertbarkeit. 414
Leon, N., Ueber die Speichelpumpe der Culiciden. 361
Lichtenstein, Stefania, Hefenährböden aus einem Hefepräparat der Fabrik Cenovis in München. 389
Lipschitz, Werner, Untersuchungen über die therapeutische Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln durch Messung der Zellatmung. 569
Martini, E., u. **Burgarth, H.,** Die Anatomie des weiblichen Hundeflohes als Beweis für die stammesgeschichtliche Herkunft der Flöhe. 29
Mayer, Martin, Bemerkung zu der Arbeit von Kurt Hesselbach: Die trypanozide Wirkung von „Bayer 205" auf Trypanosoma equiperdum. 96
— —, u. **Höppli, R.,** Ueber eine menschliche Infektion mit einem Bakterium aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie (Pasteurellose). 241
Moschkowski, Sch., Eine einfache Methode zur Schnellfärbung von Blut und Blutparasiten. 296
Neumann, Franz, Zwei Fälle von spontan ohne Ansteckung entstandener, originärer Kaninchensyphilis (Genitalspirochätose). 100
Oehler, Rudolf, Die Riegelsche Amöbenfärbung beim Studium der feineren Struktur von Zuchtamöben. 494
Ogata, Norio s. **Ishiwara, Kikutaro.**
Okuda, Sukeyasu, Ueber aktive Milzbrandimmunisierung. 562
Olitzki, Leo, Bericht über den Verlauf einer Y-Ruhrepidemie in der städtischen Heilanstalt für Nerven- und Gemütskranke zu Breslau. 262
Prausnitz, Carl, u. **Stern, Margarete,** Beiträge zum Wesen der Wassermannschen Reaktion. 246
Presting, Herbert, Zur Unterscheidung der Streptokokken und Pneumokokken. 424
Puder, Alexander, Bemerkungen über die Anatomie und die Zucht der Nematode Rhabditis pellio. 97
Quast, P. s. **Bach, F. W.**
Rabinowitsch, Marcus, Ueber den Flecktyphuserreger. 497
Reichert, Fr., Ueber die Brauchbarkeit der Meinickeschen Reaktion (D.M.) zum Nachweis luetischer Veränderungen des Liquor cerebrospinalis. 328
Rosenstein, Walter, Experimentelle Untersuchungen zur Prophylaxe der Dermatomykosen. 331
Rother, Wilhelm, Ueber Farbstoffbildung bei 2 Xerosestämmen. 127
— —, Ueber Klärung von Nährbrühe mit Speichel. 20
Ruge, Heinrich, Eine Wurstvergiftungsepidemie durch Bact. enteritidis Gärtner, zum Teil mit Botulismus-ähnlichen Erscheinungen. 143
Salus, G., u. **Hirn, Georg,** Zur Wasserbegutachtung und zur Coli-Biologie. 286
Saphir, Otto, Ueber eine handliche anaërobe Kulturmethode mit Oberflächenwachstum. 205
Saul, E., Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. XXV. Mitteilung. Ueber die Erscheinungen des Rezidivierens. 336
Schaede s. **Kathe.**
Schneider, Martin, Zur Kasuistik der Ulcera ad genitale. 261
Shiga, Mitsuo, Weitere Studien zur Frage der Aetiologie der Ozaena. 78
Sommer, Hugo, Die Keimzählung in Bakterienimpfstoffen auf mikroskopischem Wege. 468
Steck, Werner, Weitere Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Keim- und Körperzellgehalt aseptisch gewonnener Einzelviertelmilchen aus gesunden Kuheutern. 61
Stern, Margarete s. **Prausnitz, Carl.**
Stutzer, M. J., Eine neue Art des Paradysenteriestäbchens. 12
Sütterlin, Theobald, Vergleichende Untersuchungen an russischen Paratyphusstämmen. 419
Sumiyoshi, Yataro, Bacillus aromaticus aërogenes cavi. 461
Tinti, Mario, Einfluß von Vitaminen auf das Wachstum einiger Bakterienarten. 401
Trautwein, K. s. **Waldmann, O.**
Trawiński, Alfred, Ist die Wallbildung ein charakteristisches Phänomen der Kolonien der Paratyphus B-Bakterien (Typus Schottmüller)?. 17
Venema, T. A., Ueber die Wirkung sub-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kutaner Terpentininjektionen bei Kaninchen. 190
Vorschütz, Josef, Beruht die Impf-Gruber-Widal-Reaktion auf denselben physiko-chemischen Momenten wie die unspezifische und geht erstere ebenso parallel der Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten wie letztere? 105
Wagner, Gerhard, Beiträge zur Kenntnis der Milzbrand- und milzbrandähnlichen Bazillen. 433
Waldmann, O., u. Trautwein, K., Die Maul- und Klauenseucheimmunität nach künstlicher und spontaner Infektion sowie nach simultaner Impfung. 448
Weigert, Edith s. **Gutfeld, Fritz, v.**
Willerding, Ueber die Bereitungsweise der 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung zur Komplementbindung. 481
Wolff, L. K. s. **Janzen, J. W.**
Yamaguti, K., Untersuchungen über die „grünen Kokken". Beitrag zur Bakteriologie der Mundhöhle. 345
Yoshioka, Masaaki, Ein Paratyphus A-Bazillus ohne Gasbildungsvermögen. 219
Yu, Ilchun, Beiträge zur Differenzierung der Pneumokokken. 322
— —, Untersuchungen über heterologe Präzipitation. 381
Zlatogoroff, S. J., Gorodkowa, A. A., u. Karetnikowa, W. W., Zur Aetiologie der Ruhr, mit besonderer Berücksichtigung der Ruhrepidemie von 1920 in Petersburg. 316

II. Sachverzeichnis.

Agglutination, Gärungs-. 198
Amöbenfärbung nach Riegel. 494
Anaërobe Kulturmethode. 205
Atmung von Mikroorganismen und Zellen. 49

Bac. aromaticus aerogenes cavi. 461
Bac. enteritidis Gärtner, Ursache einer Wurstvergiftungsepidemie. 143
Bac. mycophagus n. sp. 306
Bact. coli, Biologie. 286
Bakterien, hämoglobinophile. 182
Bakterien, Lebensfähigkeit. 1
Bakteriophag. 6, 362, 374
Bakterizidie, Gärungs-. 198
Bakterizidie, Methode zur Bemessung des Titers. 391
Bandwürmer, Pferde-, Lebensgeschichte. 168
Bayer 205, Wirkung auf Trypanosoma equiperdum. 96, 271

Choleradiagnose. 53
Choleravibrionen, Einfluß von Salzen. 407
Cochlosoma anatis n. g. n. sp. 26
Culiciden, Beobachtungen. 38
Culiciden, Speichelpumpe. 361
Cyclostoma elegans. 457

Darmflagellaten aus der Hausente. 24
Dermatomykosen, Prophylaxe. 331
Desinfektionsmittel, therapeutische Wertbestimmung. 569
Dibothriocephalus Raillieti Rátz. 272
Diuretika, Einwirkung auf Bakterien. 42
Dysenterie s. a. Ruhr.
Dysenteriebazillen, Para-, neue Art. 12

Encephalitis bei experimenteller Trypanosomiasis. 94

Färbung von Amöben nach Riegel. 494
Färbung, Schnell-, von Blut und Blutparasiten. 296
Flagellaten, Darm-, aus der Hausente. 24
Flecktyphuserreger. 497
Floh, Hunde-, Anatomie des weiblichen — 29

Gärungsagglutination. 198
Gärungsbakterizidie. 198
Genitalspirochätose des Kaninchens. 100
Giardia ardeae Nöller. 28
Gruber-Widalsche Reaktion nach Schutzimpfung. 105, 209

Hammelblutkörperchenaufschwemmung, Bereitungsweise. 481
Hämoglobinophile Bakterien. 182
Hämorrhagische Septikämie. 241
Hefenährböden. 389
d'Herellesches Phänomen. 6, 362, 374
Hexamitus intestinalis Duj. 27
Hühnertyphus, Bekämpfung. 264
Hundefloh, weiblicher, Anatomie. 29

Impfstoffe, Bakterien-, Keimzählung 468
Infektionskrankheiten, thermometrische Belastung. 301
Influenza, zur Frage des Erregers. 55
Influenzaähnl. Bazillen bei Meningitis. 21
Influenzabazillen, Agglutination. 414

Kaninchensyphilis, originäre, spontan entstanden. 100
Kartoffelstärkepeptonwasser für die Choleradiagnose. 53
Keimzählung in Bakterienimpfstoffen. 468

Maul- und Klauenseuche, Immunität. 448
Meinicke-Reaktion. 328, 478
Meningitis durch influenzaähnliche Bazillen. 21
Mikroorganismen, quantitative Bestimmung der Atmung. 49
Milch, Keim- und Körperzellgehalt. 61
Milzbrand, aktive Immunisierung. 562
Milzbrandähnliche Bazillen. 433

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Milzbrandbazillen. 433
Mundhöhle, Bakteriologie. 345
Nährboden aus einem Hefepräparat. 389
Nährboden, Klärung von Nährbrühe mit Speichel. 20
Nährboden, neue Peptonpräparate. 491

Oligodynamische Metallwirkung, Beteiligung des Sauerstoffs. 113
Ozaena, Aetiologie. 78

Paradysenteriebazillen, neue Art. 12
Paratyphus A-Bazillus ohne Gasbildungsvermögen. 219
Paratyphus B-Bazillen, Ausscheidungswege. 212
Paratyphus B-Bazillen, Wallbildung. 17
Paratyphusstämme, vergleichende Untersuchungen. 419
Pasteurellose. 241
Peptonpräparate, neue. 491
Pferdebandwürmer, Lebensgeschichte. 168
Pneumokokken, Differenzierung. 322
Pneumokokken, Unterscheidung von Streptokokken. 424
Pockenlymphe, Gewinnung keimfreier — 109
Pockenlymphe, Reinigung. 41
Polyagglutinoskop. 206
Präzipitation, heterologe. 381
Protrichomonas anatis n. sp. 26

Rhabditis pellio. 97
Ruhr, Aetiologie] 316
Ruhr, Epidemie. 262

Sauerstoffindikatorei. 462
Scharlach, mikroskopische Befunde. 229
Simuliden. 38
Sparganum Raillieti Rátz. 272
Speichel zur Klärung von Nährbrühe. 20
Spirochäten im Darm von Cyclostoma elegans. 457
Spirochäten, postmortale Vermehrung in der Leiche. 91
Staphylococcus pyogenes aureus, Variationen. 224
Streptokokken, Unterscheidung von Pneumokokken. 424
Syphilis, Brucks Ausflockungsreaktion. 488
„ Meinicke-Reaktion. 328, 478
„ originäre Kaninchen- 100
„ Wassermann-Reaktion. 246

Tabaniden. 38
Terpentininjektionen, Wirkung bei Kaninchen. 190
Tetratrichomonas anatis n. sp. 25
Trichodinopsis paradoxa Clap. 457
Trichomastix gallinarum Mart. u. Rob. 26
Trichomonas Eberthi Mart. u Rob. 25
Trypanosoma equiperdum, Wirkung von Bayer. 96, 205, 271
Trypanosomiasis, Encephalitis bei experimenteller — 94
Tsutsugamushi-Krankheit, Erreger. 164
Tuberkulose, Serodiagnose mittels Komplementbindung. 134
Tumoren, Aetiologie und Biologie. 336
Typhus, Epidemie. 129
Typhus, Schutzimpfung, Gruber-Widalsche Reaktion. 105, 209

Ulcera ad genitale, Kasuistik 261

Variationserscheinungen bei Staph. pyog. aur. 224
Vibrio cholerae s. Choleravibrionen.
Vitamine, Einfluß auf das Wachstum von Bakterien. 401

Wasserbegutachtung. 286
Wassermann-Reaktion, Beiträge zum Wesen. 246
Wurstvergiftung durch Bac. enteritidis Gärtner. 143
Wut, kurze Inkubation. 162
Wut, Tätigkeitsbericht. 299

Xerobazillen, Farbstoffbildung. 127

Zellen, quantitative Bestimmung der Atmung. 49

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Anaërobe Kulturmethode mit Oberflächenwachstum. 206
Bacillus mycophagus n. sp. 307
Bakterien — Pflanzen nach Saul. 341, 342
Beteiligung des Sauerstoffes bei der oligodynamischen Metallwirkung (Taf.). 126
Cochlosoma anatis n. g. n. sp. 27
Dibothriocephalus Raillieti Rátz. 274, 275, 279, 280
Polyagglutinoskop. 207
Protrichomonas anatis n. sp. 26
Speichelpumpe der Culiciden. 361
Tetratrichomonas anatis n. sp. 25
Tsutsugamushikrankheit, Erreger derselben (Taf. I, II). 167
Xerosestämme, Farbstoffbildung. 127

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 5131

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

CE
Ser 2a
v. 90
N. 7-8

Centralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung: Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde

Originale

NOV 29 1923

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel, Geh. Obermed.-Rat, Jena
Prof. Dr. M. Braun, Geh. Reg.-Rat, Königsberg i. Pr.
Prof. Dr. R. Pfeiffer, Geh. Med.-Rat. Breslau,

herausgegeben von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Uhlworm, Bamberg, Schützenstraße 22 I
Präsident Dr. A. Weber, Dresden-A. 21, Eisenacherstr. 26 II

und

Prof. Dr. E. Gildemeister, Ob.-Reg.-Rat, Berlin-Lichterfelde W, Victoriastr. 7

Verlag von Gustav Fischer in Jena

90. Band | Jena, 31. August 1923 | Heft 7/8

— Jeder Band umfaßt 8 Hefte, die in zwangloser Folge erscheinen. —

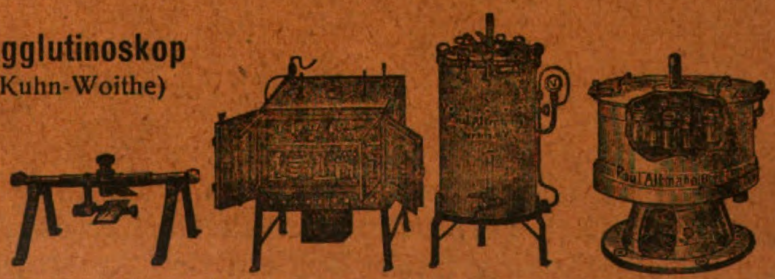
PAUL ALTMANN

Luisenstraße 47 Ecke Schumannstr. **BERLIN NW 6** Luisenstraße 47 Ecke Schumannstr.

Fabrik und Lager

aller Apparate und Utensilien für Chemie, Bakteriologie, Mikroskopie und Hygiene

Agglutinoskop (Kuhn-Woithe)



Autoklaven Brutschränke Sterilisatoren
Centrifugen Schüttelapparate
Serodiagnostische Apparate, Wasseruntersuchungsapparate
etc. etc. etc.

Vollständige Einrichtungen von Laboratorien

Telegr.-Adresse „Utensilien-Berlin“

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Trockennährböden „BRAM“

(Patent Prof. Dr. Doerr)

Zum Nachweis von Paratyphus bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung besonders empfohlen:

3 Farben-Nährböden

nach **Gassner**

nebst den anderen Spezialnährböden
jederzeit lieferbar

Chem. Fabrik u. Seruminstitut „BRAM“
G. m. b. H.
OELZSCHAU bei Leipzig.

Dr. G. Grübler & Co.

LEIPZIG, Liebigstraße 1b

Zentralstelle für mikroskopisch-chemischen Bedarf

Farbstoffe
Farblösungen **Reagentien**
für
Mikroskopie und Bakteriologie

Neu aufgenommen:

Opalblau und Phloxinrhodamin nach Bresslau
Farben zur Echtkernfärbung nach Becher -:- Lithiontoluidinblaulösung nach Epstein -:- Amidophenolchlorhydrat nach Frieber -:- Tetralin

Preislisten unberechnet und postfrei

Man achte genau auf die vollständige Adresse

Generated on 2019-09-17 13:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

BEHRINGWERKE A. G.

MARBURG a. d. LAHN

liefern

In der serodiagnostischen Abteilung des Instituts für experimentelle Therapie „Emil von Behring" hergestellte Extrakte und Ambozeptoren für die

Wassermannsche Reaktion

Extrakte (staatlich geprüft)

in Packungen zu 10, 20, 50, 100 und 200 ccm.

1. Alcohol. Luesleberextrakt.
2. Alcohol. Rinderherzextrakt mit Cholesterinzusatz.
3. Alcohol. Menschenherzextrakt mit Cholesterinzusatz.
4. Alcohol. Meerschweinchenherzextrakt mit Cholesterinzusatz.

Ambozeptoren (staatlich geprüft)

in Packungen zu 1, 3, 5 und 10 ccm.

Trübungsreaktion

nach DOLD

Alcohol. Cholest. Rinderherzextrakte
Alcohol. Cholest. Menschenherzextrakte

in Packungen zu 10, 20, 50, 100, 200 und 500 ccm

Flockungsreaktion

nach SACHS-GEORGI

Alcohol. Cholest. Rinderherzextrakte
Alcohol. Cholest. Menschenherzextrakte

in Packungen zu 10, 20, 50, 100, 200 und 500 ccm.



Präparaten-Mappen u.-Kästen, Spezialitäten der Fa.

Chr. Schaaf

Schreibwarenfabrik * Marburg (Hessen)

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-17 13:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

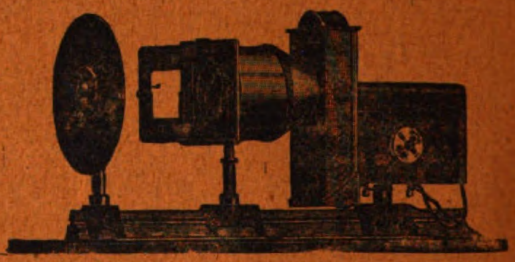
ZEISS

Mikroskope



und

mikroskopische Hilfsapparate



Kleine Projektions-Apparate
an jede Lichtleitung anschließbar

DUNKELFELDBELEUCHTUNG

PARABOLOID-KONDENSOR
für Untersuchung u. Momentmikrophotographie leb. Bakterien

KARDIOID-KONDENSOR
für ultramikroskopische Untersuchung kolloidaler Lösungen

Kardioid-Ultramikroskop, sehr lichtstarke Einrichtung



Druckschriften kostenfrei

CARL ZEISS
JENA

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-17 13:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Neue

Nährbodenpräparate

in fester Form zur

einfachen und **billigen Bereitung** von

Bakteriennährböden

insbesondere für anspruchsvolle Keime

(Vergl. Kuczynski & Ferner, Klinische Wochenschrift, 1923, Nr. 18.)

Standard I: Nähragar
Standard II: Nähragar
Standard I: Nährbouillon
Standard II: Nährbouillon

Fleischbrühersatz-Pulver

Packungen für je 1 Liter Nährflüssigkeit

Großpackungen zu 500 g Nährbodenpulver

Ausführlicher Prospekt wird auf Wunsch übersandt.

E. Merck, Darmstadt.



Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-17 13:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Diagnostik der Infektionskrankheiten

mittels bakteriologischer, serologischer, zytologischer und chemischer Untersuchungsmethoden.

Von

Prof. Dr. **R. Hilgermann**

chem. Direktor d. staatl. Instituts f. Hygiene u. Infektionskrankheiten in Saarbrücken

und

Dr. **J. Lossen**

Chefarzt und leitender Arzt der inneren Abteilung des Josefhospitals in Bochum.

Mit einem Anhang: **Die Vakzinetherapie.**

Mit 73 Abbildungen im Text und 2 Tafeln.

XII, 499 S. gr. 8° 1923 Gz 12.—, geb. 15.—

Inhalt: Einleitung. — Allgemeiner Teil. — 1. Technik der bakteriologischen Untersuchungsmethoden. 2. Untersuchung der verschiedenen Körperbestandteile und Ausscheidungen. — Spezieller Teil. 1. Durch Eitererreger bedingte Infektionen, besonders die septischen Allgemeinerkrankungen. 2. Infektionen, welche vorwiegend den Darmkanal betreffen. 3. Infektionen, welche vorwiegend den Respirationsapparat betreffen. 4. Infektionen, welche vorwiegend Mundhöhle und Nasenrachenraum betreffen. 5. Infektionen, welche vorwiegend die Haut und die äußeren Schleimhäute betreffen. 6. Tuberkulose und verwandte Erkrankungen. 7. Pilzerkrankungen. 8. Protozoeninfektionen. 9. Syphilis. 10. Durch filtrierbare Krankheitserreger bedingte Infektionen. 11. Infektionen unbekannten Ursprungs. — Anhang: Vakzinetherapie.

Dieses Buch hat sich die Aufgabe gestellt, die für die Diagnose der Infektionskrankheiten in Betracht kommenden nicht unmittelbar am Krankenbett ausführbaren bakteriologischen, biologischen, morphologischen und chemischen Untersuchungsmethoden in ihrem Prinzip, ihrer Ausführung und ihrer Verwertung darzustellen. Es soll sowohl dem in der Laboratoriumsarbeit Geschulten zur Orientierung im Bereiche dieser Methoden dienen, wie auch dem Praktiker die Kenntnis ihrer Prinzipien, ihrer Grenzen und ihrer Technik vermitteln und ihm zu einem Urteil über ihren Wert als Bausteine zum Aufbau der Diagnose verhelfen.

Münch. medizin. Wochenschr. 1923, Nr. 27: Es ist sehr zu begrüssen, daß sich zur Abfassung dieses Buches ein Fachbakteriologe und ein Kliniker, beide auf ihrem Gebiete sehr erfahren, zusammengefunden haben. . . .

In ausgezeichnet übersichtlicher Disponierung des Stoffes und Beschränkung auf wirklich Bewährtes und Anerkanntes bringen die Autoren zuerst einen allgemeinen Teil (Technik der bakteriologischen Methoden, Untersuchung der verschiedenen Körperbestandteile und Ausscheidungen usw.). Zu begrüßen ist hier besonders, daß jede Methodik ab ovo gelehrt wird. . . . Gerade bei diesem Kapitel fällt die gleichmäßig erschöpfende und ausgezeichnete Darstellung aller eben genannten methodischen Aufgaben auf; ohne Abirren auf Dinge, die mit den Infektionskrankheiten nichts zu tun haben. Wie ausgezeichnet ist auch der Abschnitt über Untersuchung der Spinalflüssigkeit! . . . Nicht minder gut ist der spezielle Teil geraten. Er zeigt dieselben Vorzüge der klaren Disponierung, der ausführlichen (auch für den Anfänger geeigneten) Darstellung des Wichtigen und Richtigen und der Ausschaltung strittiger und unwesentlicher Dinge. . . . Ganz vortrefflich scheint mir auch das Kapitel der Protozoenerkrankungen, insbesondere der Spirochätosen, in der auch neueste Forschungen (z. B. multiple Sklerose) gebührend gewürdigt werden. . . . Sehr zu begrüßen ist endlich der Anhang der Vakzinetherapie. . . . Zu den vielen Vorzügen des Buches treten endlich noch gut gewählte und reichliche Literaturangaben und eine vorzügliche Ausstattung, insbesondere auch in der reichlichen Illustrierung durch schwarze und farbige Abbildungen.

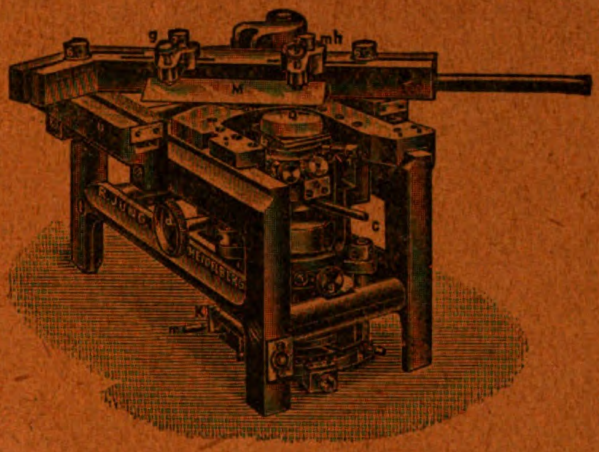
Alles in allem: ein hervorragend gutes Buch für den Kliniker und Arzt, das aber auch den Fachbakteriologen der Human- und Veterinärmedizin sehr interessieren und befriedigen wird. H. Curschmann (Rostock).

Generated on 2019-09-17 13:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

R. JUNG, Fabrik für Präzisionsapparate, A.-G.

Heidelberg, Hebelstraße 46

MIKROTOME



verschiedener Form und Größe in anerkannt bester Ausführung und unübertroffener Leistung

Mikrotom-messer

eigener Herstellung nach wissenschaftlich-technischer Methode

Das Schleifen von Mikrotommessern, auch aus anderen Werkstätten, wird sorgfältigst ausgeführt.

Paraffineinbettungsapparate

Preisliste kostenfrei

Sartorius-Werke

Akt.-Ges.

Göttingen, Prov. Hannover



Abteilung I:

Analysen-Wagen

in einfacher und besserer Ausführung

Mikrowagen

Schnellwagen =:= Apotheker-wagen =:= Präzisionswagen

Analytische u. Medizinal-Gewichtsätze.

Preisliste „Präcis 33“ kostenfrei.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-17 13:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



WINKEL-
Mikroskope.

Apochromate, Fluoritsysteme, Achromate.

Compens.-, Komplanat-, Huyghens-Okulare.

Preislisten unberechnet und frei.

R. WINKEL, G. m. b. H., Göttingen

ERNST LEITZ

Berlin NW 6, Luisenstraße 45

Abteilung für

Laboratoriumsbedarf

Einrichtung und Ergänzung von mikroskopisch-bakteriologisch-chemischen und klinischen Laboratorien

Farbstoffe und Reagentien

Versandgefäße

für infektiöses Material, nach ministerieller Vorschrift

Präparatengläser

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-17 13:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

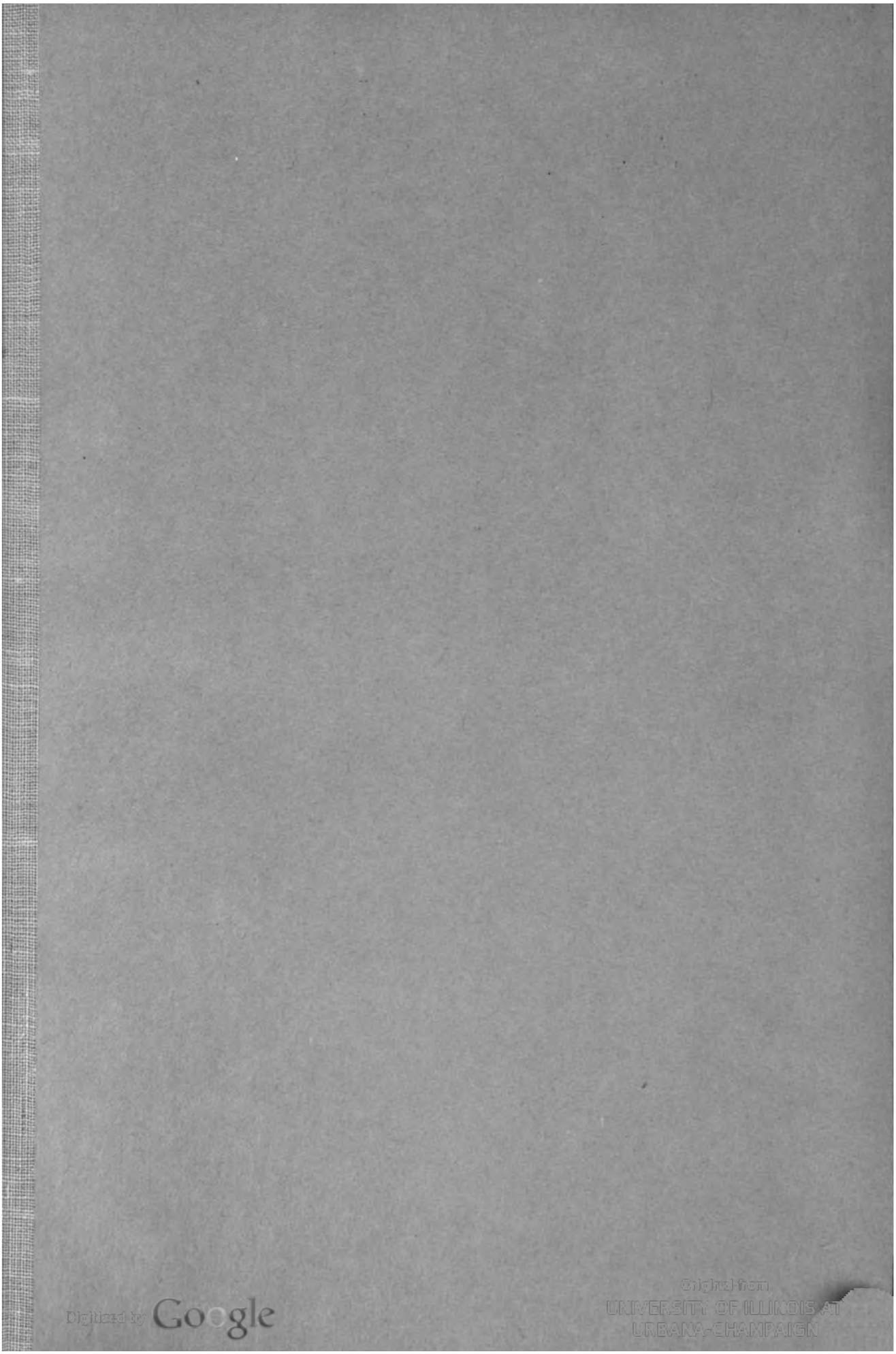
Digitized by Google

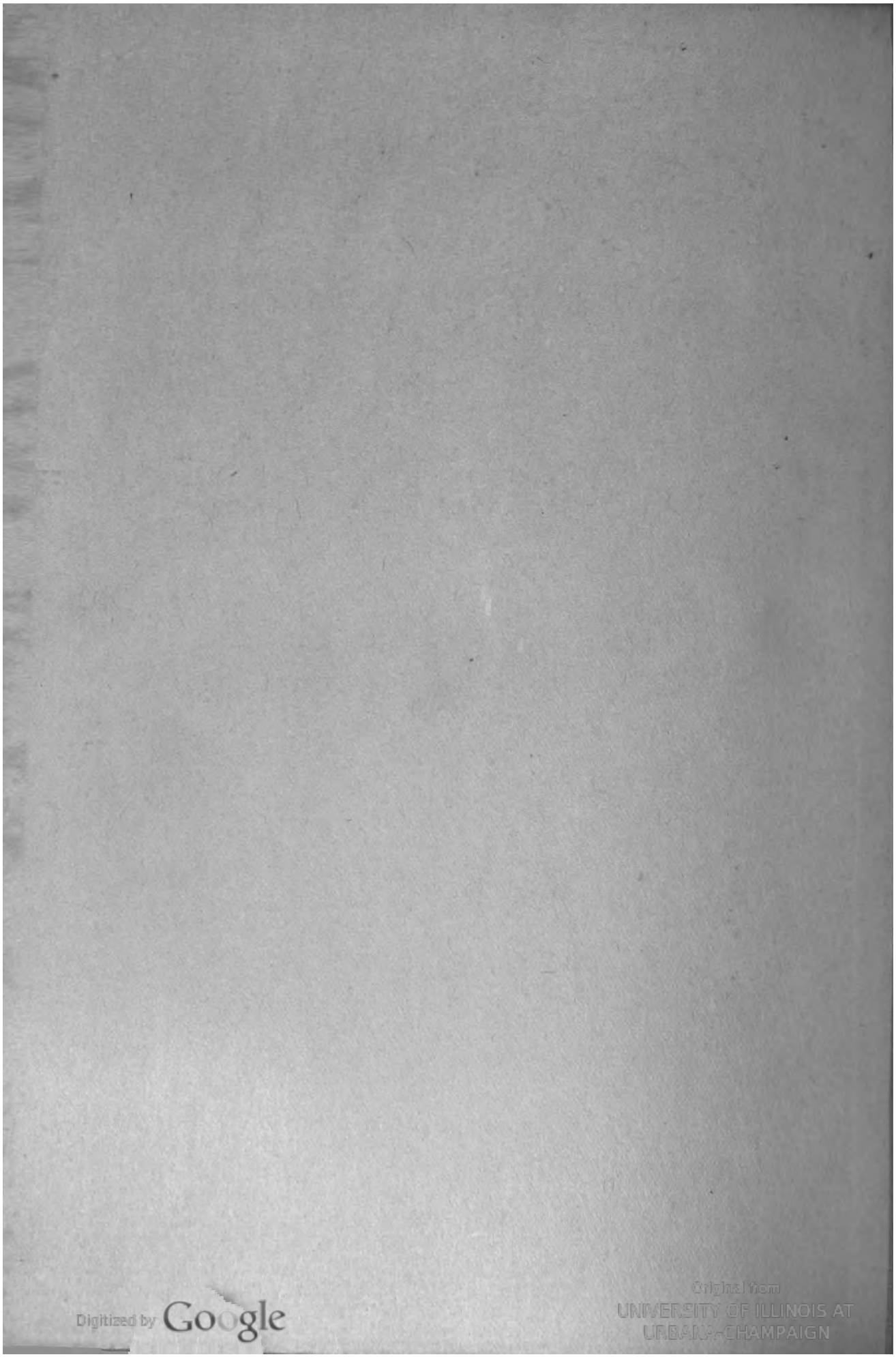
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-17 13:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN


Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google


Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-17 13:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google





Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-17 13:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

UNIVERSITY OF ILLINOIS-URB
589.05CE C001
ZENTRALBLATT FUR BAKTERIOLOGIE, PA
90 1923
3 0112 00981491

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-17 13:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814911
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google